

ANALES
DE LA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

AÑO 2010 - TOMO CXXVII

CUADERNO SEGUNDO

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

VI SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 23 DE FEBRERO DE 2010

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

**AGENTES QUÍMICOS CAUSALES
DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON**
CHEMICAL CAUSES OF PARKINSON'S DISEASE

Por el Excmo. Sr. D. MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

Académico de Número

**PRESENCIA CATALANA EN LA CIRUGÍA
DEL SIGLO XX**
*CATALONIAN SURGERY
IN THE TWENTIEH CENTURY*

Por el Ilmo. Sr. D. FRANCISCO VÁZQUEZ DE QUEVEDO

Académico Correspondiente

**AGENTES QUÍMICOS CAUSALES
DE LA ENFERMEDAD DE PARKINSON**
CHEMICAL CAUSES OF PARKINSON'S DISEASE

Por el Excmo. Sr. D. MANUEL DOMÍNGUEZ CARMONA

Académico de Número

Resumen

Se hace un estudio crítico de la metodología científica más adecuada para conocer la etiología de la enfermedad de Parkinson, base esencial para su prevención, con una panorámica de los principales factores incriminados destacando entre los ambientales el efecto de las neurotoxinas, esperando completar los aspectos sanitarios de esta importante enfermedad en una Monografía en la que irá la bibliografía.

Abstract

It is a critical study of scientific methodology best suited to the etiology of Parkinson's disease, essential basis for its prevention, with an overview of the main factors incriminated between environmental highlighting the effect of neurotoxins, hoping to complete the health aspects this important disease in an essay in which he attends the literature.

INTRODUCCIÓN

Un 5% de los casos de EP se producen, casi exclusivamente, por la acción de determinados genes; un 9% a factores del medio y el 86% restante a la concurrencia e interacción de muy diversos factores genéticos y ambientales en su mayoría desconocidos, cuyo descubrimiento permitirá la prevención primaria de la enfermedad y probablemente la de las otras neurodegeneraciones. Para aceptar que

un determinado factor causa la EP, ha tenido que actuar de forma puntual o acumulativa durante un lapso presumiblemente largo, mucho antes de que hayan aparecido signos iniciales y desde luego antes de que los síntomas hayan sido tan relevantes que hayan llevado al diagnóstico.

El agente etiológica pudiera ser un único factor, o a la concurrencia de varios, coincidentes temporal o secuencialmente que habrían ido alterando los mecanismos fisiológicos, especialmente los protectores y muy característicamente los que pueden alterar las rutas dopaminérgicas. La escasa variabilidad a lo largo del tiempo de la incidencia de la EP, hace pensar que el o los agentes causales han variado poco en su relación con el hombre o que los factores antiguos se han ido sustituyendo por otros con similar actividad. La prueba del fuego sería la disminución significativa de la incidencia de la EP a los 5-30 años de haberse cesado la exposición al factor incriminado. Se han efectuado muchos estudios retrospectivos pero cuando se ha revelado la enfermedad, los auténticos factores causales ya han actuado y probablemente desaparecidos o se ha perdido el recuerdo de la exposición, olvido que pudiera deberse a la misma enfermedad. Por ej. si el factor etiológico fuera un alimento infantil, sería casi imposible descubrirlo por la epidemiología. Los estudios prospectivos obligan a seguir a un gran número de personas cuyas exposiciones se registrarían, desde su nacimiento o al menos desde la infancia o desde la juventud hasta los 50-70 años, con la consiguiente pérdida de efectivos y como el número de personas en las que aparecería la EP sería pequeño, el intervalo de confianza sería grande. Podría orientar la comparar las exposiciones de los habitantes de áreas aisladas o muy extensas como, países y hasta continentes; en estos casos las exposiciones que se estudian son complejas comprendiendo por ej, la raza, el tipo de trabajo, medio urbano o rural, alimentos mas consumidos, procedencia del agua etc. La contaminación ambiental es un término genérico que comprende a numerosísimas y heterogéneas sustancias del suelo, del agua y especialmente del aire. También se puede investigar la existencia de signos de EP en los expuestos a una dosis puntual, o reiteradas de un agente como consecuencia del acúmulo del tóxico o el de sus efectos que causan EP experimental, como se hace con los cancerígenos o con los teratógenos, con los dinteles de seguridad, correspondientes. Otro método sería estudiar, el efecto de asociaciones. La causalidad epidemiológica debe validarse por la inoculación expe-

rimental usando tests como el de la rotación o el del balanceo espontaneo y el análisis histoquímico del cerebro de los fallecidos por EP.

Se ha atribuido importancia causal a los traumatismos craneoencefálicos por la conmoción, la hemorragia, la anoxia y la inflamación, viriasis especialmente la encefalitis letárgica de Van Ecónomo, rara vez los tumores, el estrés, los radicales libres.

Limitándonos a los agentes químicos se han señalado los metales pesados especialmente el cobre, el hierro y el manganeso que son oxidantes y sus quelantes que pueden favorecer la absorción de los metales y su paso a través de la barrera hematoencefálica. La intoxicación por monóxido de carbono causa cuadros parkinsonoides que también aparecen en los intoxicados por el ácido cianhídrico.

El DISULFIRAM, bloquea la acetaldéhidó deshidrogenasa, por lo que se empleo para disuadir del consumo de alcohol. Es un quelante de metales. Hopfer y cols. (1987) observaron en los alcohólicos tratados con esta sustancia aumento de la absorción gastrointestinal de níquel que determinaba altas concentraciones en sangre y en orina. Hoogenraad cita el caso de un alcohólico tratado con 250 mg de disulfiram al día desde los 39 años con buena tolerancia, pero a los 54 aparecieron rigidez e hipocinesia y a los cuatro años se desarrollaron síntomas de lesión de las motoneuronas, apareciendo un cuadro mixto de esclerosis lateral amiotrófica y de parkinson como en el parkinson-demencia de las islas Guam.

Las Metil tetrahydro-f3-carbolinas especialmente las 1,2,3,4-tetrahydro-(f3-carbolinas) quedan sintetizar plantas y animales (compuesto IV), ($R_2 = CH_3$), parte de cuyas estructuras están frecuentemente en el alcaloide indólicos reserpina, con actividad serotoninérgica, que inhibe a las neuronas adrenérgicas y que causa parkinsonismo y en el también indólico, yohimbina también serotoninérgico y en las más sencillas f3-carbolinas. Las tetrahydro-f3-carbolinas ($R_1 = R_2 = H$), son semejantes al MPP y como este destruyen a la DA. En condiciones fisiológicas en un pH ligeramente ácido y a temperatura ambiente se sintetizan fácilmente, a partir del triptófano (y de la triptamina y de la N-metilriptamina) formando aldehídos, á-cetoácidos, es decir que se pueden sintetizar en el cerebro y en otros órganos humanos, detectándose en las plaquetas y en la orina humana.

Las f3-carbolinas inhiben a la MAO e intervienen en la liberación de la 5-hidroxitriptamina, compitiendo con la benzodiazepina 01. El humo del cigarrillo reduce en el cerebro de la rata (Soto-Otero et

al. 2001) las proneurotoxinas endógenas dopaminérgicas, la 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolina y la 1,2,3,4-tetrahidro-beta-carbolina.

Los ditiocarbamatos Se forman al reaccionar el S_2C con aminoácidos, los cuales pueden pasar a tioazolidinas. Los ditiocarbamatos se emplean desde 1946 como fungicidas y es posible que muchos casos de EP del medio rural se deban a ditiocarbamatos. Los ditiocarbamatos forman complejos lipofílicos con el cobre, plomo, manganeso, níquel, talio y en menor grado con el cobalto, favoreciendo la absorción de esos metales. Oskarsson y cols. (1985) demostraron en ratas que los complejos ditiocarbamato-plomo se ligan a los lípidos cerebrales y quedando retenidos en el cerebro, en donde disminuye la actividad de la dopamina beta hidroxilasa, enzima con cobre e inactiva a la piridoxamina. Kamerbeck y cols. (1971) observaron que el dietilditiocarbamato empeoraba los síntomas de los intoxicados por talio, que atribuyeron a una redistribución y acúmulo del talio en el cerebro.

El fungicida Maneb contiene etilenbisditiocarbamato y manganeso. La aplicación aguda por aerosoles a monos, les causa un cuadro neurológico en el que, alternan movimientos bruscos, con torpor y temblor, la flexión con la extensión de los brazos, bostezos y cianosis. Los síntomas desaparecieron al cabo de tres semanas, pero a los cinco meses reaparecieron los síntomas con mayor gravedad, marcha insegura y paresias (Bogaert et al. 1945).

Davis y cols. (1978) atribuyeron algunos casos esporádicos de parkinson a la exposición a organofosforados.

La exposición persistente al disulfuro de carbono, como la que tenían los trabajadores de las fábricas de viscosa, rayón puede causar el síndrome estriopalidal de Quarelli, alteraciones de los núcleos laberínticos y síntomas raros como la sensación de que una mano extraña le mueve un miembro, cuadros diencefálicos y autonómicos, frecuente depresión que puede haber aparecido antes del temblor, causada probablemente por déficit de serotonina, apatía, déficit cognitivo y psicosis con alteración del comportamiento que llevó a poner rejas para evitar los suicidios en los antiguos talleres en lo que utilizaba el S_2C y parkinsonismo semejante al idiopático. Huang y cols (2004) encontraron en dos trabajadores expuestos largo tiempo al disulfuro, parquinsonismos de los que uno tenía además polineuropatía y encefalopatía con temblor en los que la resonancia mag-

nética cerebral reveló múltiples anomalías en la sustancia blanca subcortical, en los ganglios basales y/o en bulbo y a un tercero solo con polineuropatía y encefalopatía sin anomalías en la resonancia magnética. Es posible que la determinación con 99m Tc-TRODAT-1 brain SPECT del transportador de dopamina, diferencie el parkinsonismo por disulfuro del idiopático.

El S₂C puede reaccionar con aminoácidos produciendo ditiocarbamatos, que pueden pasar a tioazolidinas. potentes quelantes del cobre. zinc manganeso, magnesio y en menor grado del cobalto que pasarían más fácilmente al cerebro. Además disminuye la actividad de la dopamina beta hidroxilasa, enzima que contiene cobre e inactiva a la piridoxamina, una isoforma de la vitamina B₆ (siendo las otras el piridoxal y el piridoxol).

Se ha visto asociación de EP con la conservación de maderas, al trabajo con aleaciones, resinas, pegamentos y en la industria farmacéutica, en cuyos trabajadores se han señalado cuadros graves, pero esos estudios están muy lastrados por sesgos, debiéndose solo tener en cuenta para mejorar la observación. También se ha encontrado exceso de casos de EP en trabajadores agrícolas y forestales, que muchos, como Barbeau et al. (1985) atribuyeron a los plaguicidas. En el suero de los EP hay altas concentraciones de organoclorados. Richardson et al (2009) encontraron elevados los niveles séricos de beta-Hexaclorociclohexano en el 76% de 50 EP, en el 30% de 20 enfermos de Alzheimer y en el 40% de 43 controles. El OR de la concentración sérica del beta-Hexaclorociclohexano era para la EP 4,39 (IC del 95% 1,67-11,6) y de 5,20, para el Alzheimer sin que hubiera diferencias marcadas en otros 15 organoclorados.

Davis et al. (1978) atribuyeron algunos casos esporádicos de parkinson a la exposición a organofosforados. Elbaz et al. (2009) encontraron en agricultores retirados que habían estado expuestos a insecticidas, fungicidas, herbicidas una elevada proporción de EP. Inversamente determinaron en 224 casos de EP y en 557 mutualistas sin EP apareados por edad la exposición a plaguicidas, obteniendo un OR de 1,8, con un IC del 95% de 1,1-3,1, OR que aumentaba con los años de exposición (p = 0,01). En los varones los insecticidas tenían una OR de 2,2 (IC del 95% 1,1-4,3), OR que para los organoclorados fue 2,4 (IC del 95% 1,2-5,0). Las asociaciones fueron mayores en los varones con EP de comienzo tardío que en los que fue precoz. El efecto parkinsonoide de los pesticidas pudiera

ser debido al MPP+, que pueden contiene. (Tanner y Langston, 1990). Davis et al. (1978) describieron un caso de EP en un varón de 48 años que estuvo trabajando durante 15 con plaguicidas sobre todo organofosforados. Bochetta et al. (1986) encontraron un granjero, quién desde los 8 años estuvo expuesto a plaguicidas, entre ellos a los insecticidas ciclodienos clorados, carbonofurano, fungicidas y herbicidas, incluyendo compuestos clorofenoxi. A los 41 años le apareció rigidez en el brazo derecho que fue progresando a parkinsonismo bilateral, pese a que había dejado de usar los pesticidas; otro caso fue el de un varón de 38 años quién había trabajado varios años en una empresa química en donde se obtenían derivados del petróleo y pesticidas, sobre todo morfolínicos. Desde los 32 años, tuvo EP que afectaba preferentemente al lado derecho.

Ritz et al (2009) sugieren que pudieran intervenir variantes genéticas del transportador de la Dopamina (DAT); genotiparon a 324 casos de EP y a 334 controles del medio rural californiano, encontraron que los genotipos rs2652510 y rs2550956 del DAT y los portadores del diplotipo tenían significativamente más riesgo con relación con la intensidad de la exposición. En las intoxicaciones agudas de animales o personas no han presentado síntomas de parkinson.

Se han atribuido casos a los pesticidas bupiridílicos paraquat cuya molécula es semejante al MPTP y diquat utilizados ampliamente como herbicidas e insecticidas, sustancias muy parecidas a la metilfenil-tetrahidropiridina.

Sin embargo, ninguno de los casos de intoxicación aguda en animales o en personas cursa con síntomas de parkinson y tampoco se ha visto en trabajadores de caña o goma expuestos durante diez meses al año al paraquat (Swan, 1969; Hearn, y cols. 1971).

La inyección peritoneal de ratas adultas, tres veces a la semana de paraquat les cambia el modo de caminar, pierden destreza para mantener el equilibrio en el rotorod (tambor que gira lentamente). (Somayajulu-Niṣu et al. 2009). En el cerebro aumentaron los marcadores de estrés oxidativo y se habían perdido el 65% de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra.

En cambio no se han causado cuadros de EP en trabajadores de caña o de goma expuestos durante diez meses al año al paraquat (Swan, 1969; Hearn, et al. 1971).

La rotenona es un plaguicida, con actividad de neurotóxina relacionada con la EP que inhibe al complejo mitocondrial I, causando disfunción del sistema ubiquitina-proteasoma y apoptosis.

La rotenona aumenta en las neuronas humanas SH-SY5Y de estirpe dopaminérgica, (Pan et al 2009) el citocromo C en el citosol y la subunidad IV de la citocromo oxidasa (COX IV) de las mitocondrias, acumulándose grandes moléculas con bandas ubiquitinadas, con apoptosis neuronal, efectos que la rapamicina disminuye y que se bloquean parcialmente si se suprime el gen 5, relacionado con la autofagia (Atg5) al transfectar el siARN Atg5. Los cambios en el citocromo C y en COX IV indican que la disminución de la translocación del citocromo C desde la mitocondria al citosol se debe probablemente al turn over de la mitocondria lesionada. El que los lisosomas y las mitocondrias estén colocolizadas en las células pretratadas con rapamicina y que las mitocondrias podría estar dentro de la doble membrana autofágica, apoya que la mitocondria lesionada podría aclararse por mitofagia, autofagia de la mitocondria. La autofagia aumentada por la rapamicina es neuroprotectora frente a la apoptosis inducida por la rotenona por el aumento de la autofagia.

NEUROTOXINAS

Cada vez se descubren más sustancias a cuya exposición puntual o prolongada, entrada en el organismo por las vías oral, muscular, venosa, peritoneal, cutánea, nasal que por apoptosis o por necrosis matan a las muy frágiles neuronas nigroestriadas dopaminérgicas, que causan en animales experimentales, cuadros asimilables a la EP. La pérdida de olfato y la precocidad de las lesiones de las vías olfatorias en algunos procesos neurodegenerativos hacen pensar que el o los agentes causales podrían entrar por las vías olfatorias, particularmente sensible para la entrada de xenobióticos en el SNC, por esa ruta, particularmente sensible.

Las neuronas del bulbo olfatorio, de la sustancia nigra, del estriatum, y las del cortex prefrontal, sufren apoptosis (Prediger et al. 2009) y tienen disminuida la expresión de la tirosina hidroxilasa y la de la DA con alteración de las funciones olfatoria, cognitiva, y motórica análogas a las observadas en la EP.

Las neurotoxinas son moléculas, menores de 500 daltones, termoestables, resistentes a las proteasas, carentes de carboxilo que, a diferencia de los intermedios de los radicales libres, se ligan a las resinas de intercambio de cationes, y se separan de los aminoácidos excitatorios, glutamato y aspartato y del ácido quinolínico, por in-

tercambio de iones y por cromatografía de fase reversa, con capacidad de destruir tardíamente a las neuronas. Las neurotoxinas actúan por medio del receptor del NMDA, (Yang et al. 1998). En el estrés térmico experimental las endotoxinas elevan las interleucinas plasmáticas 1,6,10 y la IL.2 que pasa de $64,3 \pm 32,3$ pg/ml, a 200 ± 50 pg/ml (Wang et al. 2000). Las microglías del cerebro inflamado por lesiones del endotelio arteriolar segregan neurotoxinas endógenas (Giulian et al. 1993), con máxima reactividad, a los dos días de la lesión.

Los casos de EP causados por neurotoxina tienen una latencia corta, lo que sugiere una elevada toxicidad. A este propósito creemos muy interesante el Parkinson de las islas Marianas (GUAM). Este archipiélago fue descubierto el 6 de marzo de 1521 por Magallanes y por Elcano y bautizadas «Marianas» por el misionero jesuita Diego Luis de Sanvitores, en honor de la Reina Mariana de Austria. En 1561 tomó posesión de ellas en nombre de la corona de España, el adelantado Miguel López de Legazpi, pero en 1898, fueron vendidas a Alemania, pasando a ser administradas por USA, terminar la IIGM. En 1988 tenía 127.500 habitantes autóctonos, prácticamente todos chamorros, más unos 20.000 militares y familiares de las bases estadounidenses, conservándose abundantes patronímicos y costumbres españolas y hasta el «chamorro» actual, está muy influido por el español. En el archipiélago tienen elevada prevalencia dos cuadros clínicos raros en el resto del mundo: el parkinson-demencia y la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), proceso caracterizado por la pérdida progresiva de la musculatura y con ella, de la fuerza, debido a la pérdida de neuronas del asta anterior de la médula, sin que se afecten las neuronas sensitivas ni a las que intervienen en la inteligencia. La asociación de la ELA con el parkinson en la isla de Guam, la más importante isla del archipiélago, tenía una prevalencia de 130 a 200 por 100⁵ habitantes, llegando a ser en algunas zonas 20.000, y en la de Rota de 400 a 420 (Koerneer, 1952; Kurland et al. 1954; Lessel et al. 1962), cifras muy superiores a lo esperable si ambos procesos fueran independientes. Similarmente ocurre con la asociación parkinson-demencia.

En 1958 comenzó el registro de los chamorros para hacer estudios prospectivos. Hay patrón de riesgo familiar (Plato et al. 1967, Reed et al. 1975, Garruto et al. 1983, Blake et al. 1983). A los 25 años, se habían recogido 77 casos de ELA-parkinson, 42 de parkinson-demencia y 7 con ambos procesos. El RR de padecer la enfer-

medad en padres y esposas de los pacientes, era de 3 a 10, asociación inexistente en los familiares de los controles. Los hijos de los pacientes, no tuvieron más riesgo de desarrollar la enfermedad. Estos datos implican una agregación familiar no hereditaria. Tampoco indican factor hereditario los estudios efectuados sobre marcadores genéticos ni los estudios genealógicos.

Reed et al. (1984) encuestaron a 851 miembros de 20 familias tomadas al azar de Guam y otras de Rota. Pudieron ser estudiados el 74 % de los 851 elegidos de Guam y el 80 %: de 337 de Rota. Entre ellos se encontraron un caso con ELA, otro con PD, y otro con ambos procesos en Guam. En Rota hallaron dos casos con las dos enfermedades. Esto supone unas tasas de prevalencia ajustadas de $130/10^5$ habitantes para Guam y de 324 para Rota para los dos procesos.

La existencia de amplias diferencias geográficas, la disminución de la incidencia especialmente de la ELA y de la mortalidad de los casos, la modificación de la razón de sexos y el retraso en la edad de aparición (durante 1979 a 1983 no aparecieron nuevos casos en el grupo más joven, 40 a 59 años) lo que sugiere factores ambientales.

Cucchiaroni et al. (2010) El complejo ALS-PDC, constituido por la esclerosis lateral amiotrófica ALS con el Parkinson-demencia PD, es un proceso neurodegenerativo que añade al ALS, el parkinsonismo y síntomas de Alzheimer con bastante prevalencia en las islas Guam que se piensa pueda esta causado por la BMAA.

La incidencia anual de la ELA y del PD fue desde 1948 a 1955 de $50/10^5$ en Guam, que pasó a $5/10^5$ a comienzos de los 80 (Reed et al. 1975; Garruto et al. 1985). La PD no ha bajado en la misma proporción. La diferente tendencia de los casos de ELA y de PD no excluye un origen común, pues pudiera deberse a diferente vulnerabilidad en ambos procesos, que determinaría que la EP tardara más en desaparecer. Los chamorros que emigraron a Estados Unidos siguen teniendo al cabo de treinta años los mismos patrones de incidencia de las dos enfermedades, incluso cuando abandonaron las islas jóvenes, lo que implicaría que basta una exposición en la infancia o en la adolescencia para que aparezca la enfermedad. Los filipinos que emigraron a Guam desarrollan al cabo de veintinueve años las dos enfermedades, de modo que basta una exposición en la edad adulta para que se produzcan (Reed et al. 1975; Garruto et al. 1981), lo que indica que tampoco se debe al acúmulo de un tóxi-

co; pero, en cambio, no lo adquieren los americanos ni los isleños de La Carolina que viven en Guam, posiblemente porque no han adoptado los modos de vida causales.

Los investigadores dirigidos por Garruto, Gadjuset y por Perl, en una serie de trabajos publicados entre 1982 y 1985, demostraron la presencia de depósitos de calcio y de aluminio en las neuronas hipocampales de pacientes con ELA y con PD. La utilización de diversas longitudes de onda en un espectrómetro de rayos X conectado a un ordenador, permitió observar la disposición de estos elementos en torno al núcleo y en las dendritas de las neuronas, aunque la disposición varió en cada caso y de neurona a neurona. La mayor concentración encontrada fue 4.300 pmm para el calcio y 700 pmm para el aluminio, expresadas en peso de cerebro seco. Los depósitos deben estar compuestos por complejos minerales. En ninguno de los controles hubo depósitos. El empleo del microscopio de protones, ya utilizado en 1987 para demostrar el depósito de aluminio y sílice en el Alzheimer aclarará esta deposición de aluminio y calcio en el cerebro de los afectados por la ELA y por el PD en Guam.

Se ha relacionado la EP, la ELA (y el Alzheimer) con un trastorno del metabolismo mineral primario o mejor secundario que determina deposición del aluminio y del calcio en el cerebro de los afectados. El que se acompañe en Guam de demencia es lógico, dada la conocida apetencia del aluminio para las neuronas del córtex que causa demencia en los dializados. Luego aparecerían ~ las marañas de neurofibrillas que se encuentran en el 95 % de los afectados de Guam y en ninguno de los testigos. Los depósitos de calcio y de aluminio son causa y no consecuencia de la formación de alteraciones del citoesqueleto neuronal, pues la inyección de aluminio en los animales causa lesiones semejantes a las del Alzheimer relativamente pronto. Es posible que el aluminio acelere la muerte celular, de modo que la exposición en la infancia o en la adolescencia rebajarían la cifra de neuronas y luego, al envejecer, se haría aparente, como pasa en los chamorros que emigraron a Estados Unidos.

Se ha especulado mucho sobre el mecanismo por el cual se depositan el calcio y el aluminio. Yase (1972 1980) y otros autores, creen que se deberían a una disminución del calcio de los alimentos o del agua, que produciría un hipoparatiroidismo secundario que aumentaría la absorción del calcio y del aluminio. Sin embargo, hay todo tipo de patrones respecto al calcio en el agua y en el consumo de pescado.

La degeneración neurofibrilar es un marcador de la posterior aparición de la ELA y de la EP en Guam. Anderson et al.(1979), encontraron en el cerebro de 69 chamorros que murieron por diferentes procesos, sin signos de aquellas enfermedades que el 29% de los fallecidos de 30 a 39 años y en el 100% de los de 80 a 89 años, tenían degeneración neurofibrilar.

Uno de los alimentos tradicionales de las Guam son diversas Cycas, plantas de la familia de las cicadáceas propias de las regiones tropicales y subtropicales, cuyas semillas tiene un tegumento de vivo color; en sus raíces viven simbióticamente esquizofeas y bacterias. De ella se extrae la cycasina o metil-azo metanol-glucosido. $CH_2 = N-CH_2$ -glucosa.

En 1954 se evaluó como causa el consumo de la harina de cicada llamada «fadang» por los nativos (federico por los colonizadores españoles), con la que preparaban tortillas, tés y caldos y hasta medicamentos.

Los aborígenes de las islas australianas de Groote y de Eylandt presentan una elevada incidencia de enfermedades neurológicas; muchas de estas personas tienen déficit de tiamina

La neurotoxina más estudiada es la 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina o MPTP cuyo efecto parkinsonoide descubrieron en 1982, Barbeau et al. El MPTP procede del ambiente aunque la 3-(2-aminofenil)-5-metilamino-2-pentenoico lactona, que aumenta con la vejez podría constituir un precursor endógeno. La MPTP es en realidad una proneurotoxina ya que su efecto se debe a su metabolito el 1-metil-4-fenilpiridinium (MPP+), o propionoxipiridina (MPP), al oxidarse su anillo piridinio, por la monoamino oxidasa B en las mitocondrias del hígado y del SNC.

La administración a animales como las ratas, de la MPTP por cualquier puerta, incluida la oral y la nasal repetidamente de MPTP produce cuadros parkinsonianos, utilizables como modelos para de la EP. La inyección de MPTP al mono ardilla puede causar cuadros extrapiramidales no siempre parkinsonianos. Dese la puerta de entrada la MPTP atraviesa la barrera hematoencefálica, distribuyéndose por el cerebro y causa una inflamación sistémica y cerebral demostrada por el aumento significativo (en el *Macacacus fasciculatus*) de las proteínas séricas de la fase aguda de la inflamación, es decir la proteína C-reactiva, el amiloide A y la haptoglobina (De Pablos et al.2009), sin que aumente la permeabilidad de la barrera hematoen-

cefálica, como lo demuestra la perfusión cerebral de sucrosa marcada con C_{14} , y la de inulina con H_3 .

La MPTP destruye selectivamente a las neuronas tirosin hidroxilasa-positivas, mimetizando a la EP. Es una proneurotoxina, cuyo anillo piridinio, es oxidado por la monoamino oxidasa B en las mitocondrias del hígado y del SNC, dando 1-metil-4-fenilpiridinium (MPP+), o propionoxipiridina (MPP) que destruye a las neuronas y con gran afinidad a las de la pars compacta de la sustancia nigra.

La MPTP depleciona mucho más las neuronas tirosin hidroxilasa-positivas de la sustancia nigra de los ratones *Dld+/-* que son deficientes en dihidrolipoamida dehidrogenasa que en los silvestres control. (Gibson y cols. 2004). En esos ratones el malonato y el ácido 3-nitropropiónico, que actúan como el MPTP causan lesiones estriatales significativamente mayores que en los controles.

La Inyección de MPTP en el peritoneo de ratones, aumenta en la sustancia nigra y en el estriatum, la expresión de los ARNm de la óxido nítrico sintasa, la de la metalotioneina-I, y aumentan esas sustancias, que peroxidan a los lípidos como revela la producción de malondialdehidos reactivos. En los intoxicados con MPTP la función transportadora de la MPTP por las proteínas ABCB1 y ABCG2 es normal, pero la expresión de la ABCG2 en los capilares cerebrales está disminuida 1,3 veces ($p < 0,05$), mientras que aumenta 1,43 veces la de la ABCB1 ($p < 0,05$). La MPP inhibe a la NADH y a la dihidropteridin reductasa (DHPR), enzimas de la cadena mitocondrial de electrones, que regenera a la tetrahidrobiopterina, coenzima necesaria para la síntesis de dopamina. En ratones entre ellos el C57BL/6, la MPTP depleciona a la dopamina del estriatum y mata a numerosas neuronas. Si el animal no muere, ni se repite el tóxico a los 30-60 días de intoxicado, ya ha aumentado la expresión del ARNm de la tirosinhidroxilasa de las neuronas dopaminérgicas nigroestriatales sobrevivientes tingibles con el Nissl y con colorantes inmunohistoquímicos, apareciendo isoformas que emigran anómalamente en la electroforesis. (Jakowec et al 2004). La situación se normaliza a los 60-90 días, incluyendo al transportador de dopamina.

Las inyecciones con dosis subagudas de MPTP a monos, sacrificados a la semana de la última inyección, activa y multiplica a las microglías de la pars compacta de la sustancia nigra y del área ventro tegmental. La activación de la microglia parece inducida por el efecto tóxico del MPTP ya que no progresa si se interrumpe la inyección de este. Como consecuencia la MPTP puede inducir infla-

mación, causar lesiones parkinsonoides con desaparición de neuronas dopaminérgicas, modificar la farmacocinética de muchas sustancias, que pueden hacerse neurotóxicas de las rutas dopaminérgica en la EP experimental.

La administración crónica de MPTP, también activa a las microglías, de la pars compacta de la sustancia nigra, con más pérdida neuronal que en los tratados subagudamente. Los animales sacrificados a los 5 y a los 35 meses de la última inyección, muestran que la deplección de las neuronas tirosin hidroxilasa-positivas de la sustancia nigra de los ratones *Dld+/-* que son deficientes en dihidrolipoamida dehidrogenasa es mayor que en los silvestres control *Dld+/+* y las lesiones del estriatum que producen el malonato y el ácido 3-nitropropiónico son significativamente mayores en los *Dld+/-* que en los silvestres control. (Gibson y cols. 2004). La MPTP así como el malonato y el ácido 3-nitropropiónico, aumenta significativamente la deplección de las neuronas tirosin hidroxilasa-positivas de la sustancia nigra y del estriatum, de los ratones *Dld+/-* que son deficientes en dihidrolipoamida dehidrogenasa, subunidad crítica de la α -ceto-glutarato dehidrogenasa KGDHC y la de la piruvato dehidrogenasa (PDHC) mucho más que en los ratones silvestres control. (Gibson et al. 2004). Esos dos enzimas están disminuidos en los enfermos de Parkinson, Alzheimer y Huntington, Las mitocondrias de las neuronas aisladas de los ratones *Dld+/-*, tratadas con ácido 3-nitropropiónico, tienen muy disminuidos la respiración ejercida por el succinato y el potencial de membrana, y por tanto disminuye el metabolismo energético y los enzimas mitocondriales. El 3,4-dihidroxibenzoato (DHB) que regula positivamente su HIF-1 α , inhibe al PHD evitando la pérdida de neuronas dopaminérgicas por la MPTP (Lee et al. 2009)

En la neurotoxicidad de la MPTP interviene el TNF- α . Ferger y cols (2004) encontraron por «P R en tiempo real, que la administración cada 24 h de 4 x 15 mg/kg de MPT a ratones macho, TNF α (-/-) y a ratones C57bL/6, aumentaba significativamente en el estriatum la proteína ácida fibrilar glial marcadora del astrocito (GFAP) y el complejo-1 antigénico del macrófago marcador de la microglia activada (MAC-1), que generan radicales libres de oxígeno ROS, que degeneran al axon, y al soma de las neuronas situadas en la pars compacta de la sustancia nigra. La administración oral de 50 mg/kg, oral de talidomida, al inhibir la síntesis de TNF α , protege parcialmente la deplección de la dopamina que causa la MPTP. La dopamina y sus metabolitos en el estriatum del ratón TNF α (-/-) y la densidad de las fibras de la tirosina

hidroxilasa estriatal, están muy disminuidos, sin que hubiera diferencias en la tirosin hidroxilasa nigral ni en el transportador de dopamina. La inyección cada dos horas de 4 x 20 mg/kg de MPTP mata al 75 % de los ratones silvestres $TNF\alpha(+/+)$ y solo al 10% de los deficientes en $TNF\alpha$; si a los silvestres se les adiciona talidomida, la letalidad se iguala con la de los ratones $TNF\alpha(-/-)$.

Los genes de la heme oxygenasa-1 (Ho-1) y el de la manganeso superoxido dismutasa (Mnsod) aumentan el ARNm y la proteína HIF-dependiente. El pretratamiento con DHB incluso en presencia de MPTP reduce la ferroportina y el aumento de hierro en la sustancia nigra y en el estriatum que tienen niveles semejantes a los de los controles no pretratados con DHB. La DHB reduce el ARNm de la piruvato dehidrogenasa y la actividad del MPTP. El tratamiento con inhibidores de PHD o con quelantes del hierro, activa a la vía HIF de las células N27 desarrolladas en una atmósfera con un 3 % de oxígeno.

La MPP(+), in vivo, aumenta el hierro total y disminuye la viabilidad en presencia de DHB (Lee et al. 2009). Así la protección contra la neurotoxicidad de la MPTP puede deberse a las alteraciones de las mitocondrias, extensible a otros procesos.

La inyección unilateral de MPTP en un hemisferio, provoca una rotación postural y si se activan los animales con anfetamina o con apomorfina los movimientos se hacen exagerados.

El factor inducible por la hipoxia (HIF) regula al hierro, y protege a las mitocondrias de la oxidación. Los genes heme oxygenasa-1 (Ho-1) y manganeso superoxido dismutasa (Mnsod) aumentan el ARNm y la proteína HIF-dependiente si se pretratan con DHB incluso en presencia de MPTP.

Las reducciones en la ferroportina y los aumentos del hierro en la sustancia nigra y en el estriatum revierten a niveles comparables a los de los controles no pretratados con DHB. La DHB reduce el ARNm de la piruvato dehidrogenasa y la actividad del MPTP. In vitro, la vía HIF se activa en las células N27 desarrolladas en atmósfera con 3% de oxígeno tratadas con inhibidores de PHD o con un quelante del hierro. Lee et al. (2009) vieron que in vivo, el MPP(+) aumenta el hierro total disminuyendo la viabilidad en presencia de DHB. Estos datos, sugieren que la protección contra la neurotoxicidad de la MPTP puede estar mediada por las alteraciones de las mitocondrias, conclusión extensible a otros procesos.

En 1979 un estudiante norunidense intentó sintetizar un narcó-

tico petidínico y sufrió EP aguda. La MPTP causó en 1983 un brote de parkinsonismo en los heroinómanos del norte de California

La metanfetamina da positivo el test de la rotación. Cowen (2002) y Migliore et al. (2002) atribuyeron casos a la MPTP contaminante de la meperidina y de la petidina o formado como un subproducto de la síntesis de drogas de diseño casos de EP. Rinwald y cols. (1982) estudiaron a un paciente tratado con un análogo de la meperidina, quién desarrolló acinesia periódica, rigidez, hemibalismo que, simulaba bastante al parkinson con ausencia de cuerpos de Lewy, por no haberse producido reacciones ¿inmunes? Sería un cuadro nígrico puro, aunque para otros estaría afectado el estriatum (los cocainómanos tienen más casos de EP que lo atribuible al azar.

El efecto de la MPTP se debe a su metabolito 1-metil-4-fenilpiridinium o MPP⁺ producido por la monoamino oxidasa B (MAO B) inhibible por la pergilina —deprelio— que oxida al anillo piridinio en las mitocondrias del hígado y en las del SNC. Para la actividad de la MPTP se requiere el N-metil ya que su sustitución por el N-etil lo hace inactivo.

El MPP⁺, semejante al paraquat, es muy estable y polar, teniendo su ión piridinio carga positiva. SE concentra en las neuronas de la pars compacta de la sustancia nigra y menos en otras áreas.

La MPP⁺, destruye las neuronas cerebrales y al ser captado preferentemente por las sinapsis dopaminérgicas del estriado, afectando a las de la pars compacta de la sustancia nigra. La MPP⁺ inhibe a la NADH y a la dihidropteridín reductasa (DHPR), enzima de la cadena mitocondrial de electrones, que regenera a la tetrahidrobiopterina, coenzima necesaria para reducir a la tirosin-hidroxilasa, que sintetiza L-DOPA a partir de la tirosina, que esta disminuida en los EP (Lovenberg et al. 1979) en el LCR, y en el SNC.

Vázquez-Claverie et al. (2009) encontraron en la sustancia nigra y en el área ventral tegmental de los monos sacrificados a la semana de haberles inyectado la última dosis de una pauta subaguda de MPTP y más intensamente en los sacrificados a los 5 y a los 35 meses de la última inyección de la MPTP en una pauta crónica, que la MPTP aumenta las microglías y su actividad, haciendo desaparecer a las neuronas dopaminérgicas. La activación de la microglía parece inducida principalmente por la toxicidad del MPTP, ya que no progresa al interrumpir las inyecciones de MPTP. En cambio, en los enfermos de EP, la degeneración no se interrumpe y sigue progresando aunque no se activen las microglías.

La MPTP causó en un joven que sintetizaba domesticamente heroína y en 1983 se produjo un brote de parkinsonismo en los heroinómanos del norte de California que contaminaba a la droga. Cowen (2002), Migliore y Coppede (2002) encontraron un subproducto en la síntesis de análogos sintéticos de la heroína que causaba EP. Además se encontró por Tanner y Langston (1990), MPP⁺, en los pesticidas.

Los inhibidores farmacológicos de las prolinas hidroxilasas (PHD) hierro-dependientes, que marcan a las subunidades α de las proteínas HIF para ser degradadas. Recientemente se sabe que disminuye la neurodegeneración en el ictus y en la isquemia hipóxica. Lee et al. (2009) informaron que la inhibición del PHD por el 3,4-dihidroxibenzoato (DHB) protege contra el MPTP inductor de la pérdida de neuronas dopaminérgicas de la sustancia nigra y regula positivamente a la HIF-1 α de esas neuronas. El aumento del ARNm y de la proteína HIF-dependent genes heme oxygenasa-1 (Ho-1) y la manganeso superóxido dismutasa (Mnsod) por el pretratamiento con DHB. Las reducciones en la ferroportina y los aumentos del hierro en la sustancia nigra y en el estriatum revierten a niveles comparables a los de los controles no pretratados con DHB. Las reducciones del ARNm de la piruvato dehidrogenasa y la actividad del MPTP se atenúa también por la DHB. In vitro, la vía HIF se activa en las células N27 desarrolladas en atmósfera con 3% de oxígeno tratadas con inhibidores de PHD o con un quelante del hierro. CD acuerdo con los resultados de Lee et al. (2009) in vivo, el MPP⁽⁺⁾ aumenta el hierro total disminuyendo la viabilidad en presencia de DHB.

En conjunto estos datos sugieren que la protección contra la neurotoxicidad de la MPTP puede estar mediada por las alteraciones de las mitocondrias y extendible a otros procesos.

La MPTP inyectada peritonealmente a ratones aumenta en el estriatum y en la sustancia nigra la óxido nítrico sintasa (nNOS) y su ARNm en el cerebro de los ratones. La administración intragástrica después de la inyección de Ginkgo biloba Pingchan Recipe inhibe la neurotoxicidad del NO probablemente por un efecto antioxidante al reducir la síntesis cerebral de nNOS (Zhang et al. 2009).

Vautier et al (2009) descubrieron que en los ratones tratados con MPTP, la bromocriptina se distribuye ampliamente por el cerebro, 2,3 veces más que en los ratones control ($p < 0,001$) lo que podría deberse a un aumento de la permeabilidad de la BBB, pero no lo confirma la perfusión cerebral de sucrosa marcada con carbono 14, ni la de la inulina con H3. En los intoxicados con MPTP la función

de las proteínas ABCB1 y ABCG2 rd normal, pero la expresión de la ABCG2 en los capilares cerebrales de los ratones tratados con MPTP disminuye 1,3 veces ($p < 0,05$) mientras que aumenta 1,43 veces la de la ABCB1 con $p < 0,05$, lo que indica que la MPTP se vehicula por otros transportadores del eflujo.

La MPTP, aumenta en el estriatum del ratón la expresión del ARNm de la metalotioneina-I, y aumenta la peroxidación lipídica, evaluada por la producción de malondialdehidos reactivos.

Ono et al. (2009) observaron que la administración por sonda gástrica de 30 mg/kg de mesilato de pergolide a ratones con EP inducido por MPTP, baja significativamente, en el corpus estriatum del ratón la expresión del ARNm de la metalotioneina-I sin modificar la del ARNm de la metalotioneina-III, e impide el aumento de la peroxidación lipídica evaluada por la producción de malondialdehidos reactivos.

Aunque la administración de mesilato de pergolide solo, no afecta la expresión, de MT-I, la adición durante los siete días siguientes de 30 mg/kg de mesilato de pergolida recupera la disminución de la MT-I y aumenta a la MT-III suprimiéndose prácticamente la peroxidación. Estos resultados sugieren que el mesilato de pergolide es antioxidante induciendo simultáneamente a los ARNm de MT-I y al de MT-III en respuesta a las lesiones celulares y tisulares.

Las ratas infundidas intranasalmente con bajas concentraciones de MPTP sufren subsiguientemente alteraciones de las funciones olfatoria, cognitiva, y motórica análogos a los de la EP, disminuye la expresión de la tirosina hidroxilasa en el bulbo olfatorio y en la sustancia nigra por mecanismos apoptóticos reduciendo los niveles de dopamina en diferentes estructuras cerebrales, como el bulbo olfatorio, el estriatum, y en el cortex prefrontal. (Prediger et al. 2009).

La 6-HIDROXIDOPAMINA (6-OHDA) se usa mucho para obtener un modelo *in vitro* de la EP exponiendo a esta sustancia células del neuroblastoma humano de la línea SH-SY5Y (Lopes et al 2010). Los mecanismos moleculares de la pérdida de neuronas de las rutas nigroestriatales durante la progresión de la EP no se conocen completamente. Aunque esa línea diferencia a las neuronas dopaminérgicas en respuesta a una baja concentración de suero fetal bovino y de ácido retinoico. Las células del neuroblastoma humano de la línea SH-SY5Y en el medio DMEM/F12 con 10% de suero fetal de bovinos (FBS) tienen un crecimiento exponencial. Se diferencia por la combinación de 10microM de RA con 1% de FBS durante 4, 7 y 10

días. Lopes et al (2010) encontraron que las células SH-SY5Y se diferencian al cabo de 7 días, tenían incrementado el inmunocontenido de varios marcadores relevantes de las neuronas con la concomitante disminución del marcador de las células no-diferenciadas. Las células duplicaron su sensibilidad a la toxicidad de la 6-OHDA durante su diferenciación, mientras se iba perdiendo potencial de membrana (mitochondrial dysfunction parameter), que se produce antes en las células en proliferación que en las diferenciadas, lo que puede deberse al aumento del inmunocontenido de la proteína neuroprotectora DJ-1 durante la diferenciación.

Cada vez se cree más que la EP idiopática se debe a una neurotoxina natural semejante a la MPTP. La más sugestiva es el aminoácido, beta-metilamino-L-alanina (BMAA), aunque no forma parte de las proteínas, ya que no existe naturalmente su ARNt. Para Snyder et al. (2009) la BMAA podría causar neurodegeneraciones como la EP y el Alzheimer y Sara Jonasson (2010) le atribuyó la esclerosis lateral amiotrófica y Cucchiaroni et al. (2010) el complejo de Parkinson-demencia (PDC) de las islas de Guam. El compuesto III, semejante a la MPTP, se sintetizado a partir del triptófano es otro candidato a producir EP.

La BMAA se sintetiza por la mayoría de las cianobacterias, microorganismos globalmente diseminados, que colonizan numerosos ecosistemas terrestres y acuáticos, templados y tropicales, en los que forman agregados típicos llamados floraciones. Las cianobacterias acuáticas, pasan como plancton a las algas y desde estas a invertebrados, como mejillones, ostras y de ellos a los vertebrados como peces, es decir se incorpora a las cadenas alimenticias y al aire costero de manera semejante a como lo hace el mercurio. La mayoría de las pruebas in vitro confirman la toxicidad de la BMAA, sobre varias neuronas, entre ellas las dopaminérgicas. Es un agonista del receptor mixto del glutamato, sin que se conozca aún las vías específicas que activa en las neuronas dopaminérgicas (Cucchiaroni et al. 2010); la BMAA libera masivamente al citocromo-C e induce especies reactivas de oxígeno.

Sin embargo la administración incluso de dosis elevadas, a animales no causa la neurodegeneración; administrada con el pienso a ratones no se la encuentra en el cerebro, aunque si en el hígado si se usa la técnica isotópica de Snyder et al. (2009). Recientemente se ha encontrado BMAA en cerebros humanos con el complejo Parkinson-demencia y con Alzheimer.

El glutamato también activa receptores metabotrópicos, de los que se conocen ocho subtipos diferentes (mGluR₁ a mGluR₈). Esos receptores producen segundos mensajeros, moduladores celulares que median respuestas sinápticas lentas y excitotoxicidad.

La combinación de la electrofisiología, la microfluorometría y la microscopía confocal demuestra que la BMAA despolariza rápida pero reversiblemente a la membrana y aumenta la tasa de calentamiento. La corriente interna está mediada principalmente por la activación del receptor 1 metabotrópico del glutamato (mGluR1), unido a canales del TRP y en menor grado a receptores AMPA. El mGluR1 regula el depósito de calcio, que no realizan los receptores AMPA.

Una baja concentración de NMDA potencia el aumento de calcio, regulado por el BMAA. La exposición prolongada a la BMAA modifica significativamente en la membrana, la sobrecarga de calcio, la contracción de la célula, la liberación masiva de citocromo-C al citosol y la producción de ROS.

La BMAA solo activa a los receptores AMPA de las neuronas GABAérgicas del sistema nervioso periférico. Demuestran que la BMAA activa a la mGluR1 que puede causar la neurodegeneración y los síntomas parkinsonoides de la ALS-PDC, siendo posible que el BMAA contribuya a la génesis de la EP. Recientemente se ha encontrado en cerebro de personas con PDC o con EA, BMAA libre en unos casos y en otros asociado a proteínas; la hidrólisis, de la unión peptídica, libera a la BMAA, hecho que solo puedo entender si la BMAA solo se une a un extremo de la proteína.

MEDICAMENTOS

Numerosos antipsicóticos como el carbonato de litio, las fenotiazinas que pueden aumentar la actividad de los radicales libres (Pall y cols. 1987), la metoclopramida, la proclorperacina, la tetrabenecina, la tiorudacina, la trifluperacina, la trimepracina, las butirofenomas, los tioxantenos. las difenhidramina, la benatropina, la reserpina. el haloperidol, etc. tienen, entre otros efectos secundarios la posibilidad de ocasionar síntomas extrapiramidales como la distonía (contracciones musculares involuntarias, prolongadas, que se materializan en forma de muecas, tortícolis y retrócoli, espasmos de miembros y opistótonos), la acatisia (agitación fuerte del tronco y de las extremidades inferiores con frecuente angustia) y disquinesias tardías y

además síntomas parkinsonianos, El cuadro aparece a las pocas semanas de haber comenzado el tratamiento (Rajput y cols. 1982; Hausner, 1983; Caine y cols. 1986), mientras que hay pacientes tratados durante veinte años en los que no aparece el cuadro lo que indica claramente una susceptibilidad. A menudo al cabo de unos años de haber desaparecido los síntomas de los casos de EP por medicamentos se desarrolle un EP idiopática. Hay que pensar que el primero fue una sobrecarga a una persona vulnerable o la concurrencia de otros factores de riesgo.

La papaverina empeora los síntomas de los enfermos, lo cual podría deberse a su discreto efecto antagonista del calcio y tal vez por ello, tiene efecto parquinsoniano.

La nifedipina causa temblor, pero, los calcioantagonistas antihipertensivos, no tienen ese efecto. El producto se liga a los neurolépticos, y el que los síntomas y el curso del cuadro parkinsoniano sean semejantes a los causados por éstos, hace pensar en un bloqueo de los receptores postsinápticos.

No se debe a su efecto antihistamínico, ni a ni que compita con la dopamina para los receptores postsinápticos.

La bromocriptina ejerce un efecto bifásico sobre la actividad motora en pequeños roedores. En la primera hora después de la administración a ratones hay un efecto depresor, que puede observarse en forma de reducción de la actividad exploradora.

Se ha informado de que la bromocriptina evita los cambios hiperplásticos y neoplásticos en el lóbulo hipofisario intermedio de há-msters sirios tratados crónicamente con dietilestilbestrol. En la rata, se observó que la bromocriptina reducía la et-MSH circulante, mientras que el haloperidol y otros neurolépticos aumentaban los niveles séricos de melanotropina. El haloperidol y la pimozida también deplecionan el contenido hipofisario de melanotropina en la rata, lo cual puede conseguirse también provocando lesiones electrotérmicas en el hipotálamo mediobasal. La bromocriptina evita esta depleción.

Habría que añadir los inhibidores de la recaptación de serotonina, la metoclopramida (maxerán) y la metecatinona (efedrona).

La Comisión Nacional de Farmacovigilancia acordó, a comienzos de 1989, mantener estos productos contraindicándolos en el parkinson y recomendando la vigilancia de sus efectos secundarios, pese al criterio del Profesor Laporte, partidario de retirarlos del mercado. Creemos que, en todo caso, deben administrarse con prudencia,

sólo en casos muy indicados y a dosis de 10 mg al día, mucho menores que las establecidas, y someter a los tratados a una intensa y completa vigilancia para interrumpir la medicación al menor signo neurológico.

Parece que las fenotiazinas aumentan la actividad de los radicales libres anormales (Pall y cols. 1987). La fenacetina produce síntomas de parkinson en el 15% de los pacientes que la toman. Aun cuando la proclorperacina, como otras fenotiacinas de baja potencia, tiene poca actividad sobre el sistema dopaminérgico, es la causa más frecuente del parkinsonismo post drogas, Stoeppen y cols. (1984) vieron que fue la causa del 90% de los 48 casos de parkinson por drogas vistos en la Universidad de Edimburgo durante dos años. También influye la dosis, el tiempo de tratamiento y, sobre todo, la cantidad de dopamina que contiene el estriatum. Por eso en los viejos es mucho más frecuente el parkinson postneuroléptico.

Binder y cols. estudiaron 126 personas de 38,5 años de media (12,4% tratados con neurolépticos y con antiparkinsonianos durante 68,8 a 73,2 meses, y encontraron cuadros extrapiramidales, tanto más frecuentes cuanto mayor fuera la dosis.

Si los síntomas aparecen poco después de haber iniciado el tratamiento, la supresión de éste o bien la administración de antiparkinsonianos hace desaparecer el cuadro a los dos a veinte meses.

En los casos de Stephen y cols. (1984) el cuadro había remitido a los 18 meses el 12% y a los 41 meses el 25%. En cambio, cuando los síntomas ocurrieron al cabo de mucho tiempo de estar tomando los neurolépticos, ni la supresión de los mismos ni el uso de antiparkinsonianos dan resultados satisfactorios, y sólo en una mínima proporción de los casos se logra que remitan mucho tiempo después de la supresión del medicamento. Los resultados de la abstención son mejores en los pacientes de menor edad; la supresión del medicamento puede empeorar la disquinesia tardía. Como la indicación de los neurolépticos es porque aparecieron síntomas mentales, puede ocurrir que al suprimirlos empeoren o, en su caso, que reaparezcan los síntomas mentales. Los síntomas de los casos de parkinson postneuroléptico vistos por Stephen y cols. (1984), que habían durado 21 meses de media, desaparecieron al cabo de 35 días (7 a 252). La supervivencia media desde el diagnóstico fue de 20 meses.

El parkinson post medicamentos representa una sobrecarga en personas cuyo estriatum contiene poca dopamina. Los medicamentos harían que la dopamina bajara del umbral del 20% necesario para que aparezcan los síntomas. Por eso la mayoría de los afectados son viejos. La vejez también predispone a una mayor frecuencia en la aparición de disquinesia (los jóvenes tendrían más movimientos de tronco y extremidades y más distimia tardía, según Mardsen y cols. 1975, y disquinesia tardía (Smith y cols. 1980). Entre los síntomas extrapiramidales, sólo la acatisia sería independiente de la edad.

También se ha señalado mayor proclividad en los abusadores de cocaína y en los enfermos de SIDA. Esto explica que después de haberse producido la recuperación del parkinson provocado por las drogas sea frecuente el desarrollo de parkinson idiopático al cabo de uno G más años. Goetz (1983) estudió tres casos, y Stephen y cols. (1984), cinco. La droga no habría hecho sino revelar un estado parkinsoniano.

El cuadro clínico es el mismo, que el de la EP idiopática, aunque se hayan señalado algunas diferencias que no consideramos relevantes. Hausner (1983) ve en el parkinson post drogas menos temblor que en el idiopático, y basándose en ello piensa que se trataría de otro proceso. Aparte de que no tendrían importancia las diferencias en los síntomas o en la evolución, lógicas, por otra parte, dado que en el idiopático los niveles de dopamina deben ser menores. El cuadro aparece a las pocas semanas de haber comenzado el tratamiento (Rajput y cols. 1982; Hausner, 1983; Caine y cols. 1986), mientras que hay pacientes tratados durante veinte años en los que no aparece el cuadro; esto indica claramente un factor de susceptibilidad que pudiera ser debido a confluencia de otros factores de riesgo.

El parkinson postneuroléptico es la causa del 10,6% de los casos europeos. En Japón, Yagi da una incidencia del 17,8%, que Binder eleva al 40,5%. Esa discordancia se debe al tipo de neuroléptico empleado. La fenacetina produce síntomas de parkinson en el 15% de los pacientes que la toman. Aun cuando la proclorperacina, como otras fenotiacinas de baja potencia, tiene poca actividad sobre el sistema dopaminérgico, es la causa más frecuente del parkinsonismo post medicamentos. Stoeppen et al. (1984) le achacan el

90% de 48 casos de parkinson por medicamentos vistos en la Universidad de Edimburgo durante dos años. También influye la dosis, el tiempo de tratamiento y, sobre todo, la cantidad de dopamina que contiene el estriatum. Por eso en los viejos es mucho más frecuente el parkinson postneuroléptico.

La cinaricina es la 1-cinamid-4 difenil-metil-piperacina que como su derivado difluorado, la flunaricina, más potente que aquélla, tienen un anillo piperacínico que le confiere propiedades antihistamínicas, antagonistas del calcio, sedantes laberíntico y causantes de aumento del flujo sanguíneo cerebral. Fue muy utilizado consumiéndose en España unos 10 millones de envases al año, como antivasoconstrictor, para tratar la insuficiencia vascular periférica y especialmente la cerebral, y contra los vértigos, en la profilaxia de la jaqueca, para las crisis epilépticas, y para mejorar las funciones cognitivas y algunos síntomas neurológicos. La eficacia de la cinaricina es muy controvertida y en algunos casos empeoraban. Algunos de los trabajos no tuvieron en cuenta la edad de los tratados con cinaricina ni que las escalas de incapacidad y la del tiempo empleado en caminar son muy poco sensibles. Se supuso efecto antidopamínérgico por su anillo piperacínico que baja el calcio. En 1982 se encontró que en ancianos, tenía efecto parkinsoniano. Mello Souza, en 1984, señaló cinco casos de parkinson, Martí et al., publicaron en 1985 un posible caso y Chouza et al. (1986) vieron la aparición de síntomas moderados de parkinson en ocho mujeres y en cuatro varones de 64,7 años de media, que habían tomado flunaricina durante tres a 60 semanas. En dos casos había además discinesia tardía orofacial; otros dos presentaron temblor oral como el de los conejos y dos acatisia. En 11 apareció depresión desde ligera a profunda. Laporte et al. (Lancet, 11-X-1987) presentaron 16 casos con alteraciones extrapiramidales asociadas con cinaricina o con flunarizina usados contra el vértigo. El Centro Español de Reacciones adversas a las drogas había recibido, en junio de 1978, 49 informes; 20 que pudieron seguirse se recuperaron al cabo de 2 a 24 semanas, después de haber suprimido el producto; siete tuvieron parkinsonismo un año después de que su proceso fuera diagnosticado como inducido por drogas. En 1988 se habían registrado ya 140 casos.

Marti (1916) comparó la evolución de 10 enfermos de parkinson tomaban 150 mg diarios de cinaricina comparándolos con otros que

tomaron un placebo. Al cabo de 51 días de media, once pacientes de edad avanzada presentaron un síndrome parkinsoniano, no observado antes, posiblemente interfiriendo la acción de la dopamina en la vía nigroestriada a través de mecanismos diferentes de la prolactinémica.

La supresión del fármaco hizo desaparecer al parkinsonismo al cabo de unos pocos meses en 10 pacientes. Sorprendentemente la presunta actividad antidopaminérgica no aumentaba la prolactinemia tras la administración del fármaco a voluntarios sanos ni en los pacientes tratados.

* * *

También se ha señalado mayor proclividad en los abusadores de cocaína y en los enfermos de SIDA. Esto explica que después de haberse producido la recuperación del parkinson provocado por las drogas sea frecuente el desarrollo de parkinson idiopático al cabo de unos años.

**PRESENCIA CATALANA EN LA CIRUGÍA
DEL SIGLO XX**

***CATALONIAN SURGERY
IN THE TWENTIEH CENTURY***

Por el Ilmo. Sr. D. FRANCISCO VÁZQUEZ DE QUEVEDO

Académico Correspondiente

Resumen

Se presenta una síntesis de lo que ha sido el desarrollo de la cirugía en Cataluña a lo largo del siglo XX.

Centros hospitalarios, biografías de cirujanos, técnicas quirúrgicas y la vinculación catalana con escuelas quirúrgicas nacionales o europeas son referenciadas o descritas.

La cirugía catalana ha tenido un alto protagonismo nacional y guarda paralelismo, a cierta distancia, con el desarrollo de la cirugía mundial.

Abstract

In order to round it off, I would like to say that the development of surgery during these last hundred years has been quicker than throughout the history of mankind.

And, as far as the Catalonian Health Service is concerned, it must be said that its doctors have played an extremely important role not only in the general practice of medicine and surgery but also in all specialization. Surgeons here have followed the French school passionately and have widened their knowledge by going deeply into Central European sources.

All these hospitals I have mentined have been, are and will be the pride of those who consider being a doctor an «art». They are there to offer what society demands as the most coveted asset: health.

Please, allow me to dedicate this speech to those from whom we learned not only the theory and practice of medicine but also the ethics, aesthetics and art of life.

Al iniciarse el siglo xx, Barcelona contaba con un hospital de fundación medieval, el Hospital de la Santa Cruz. Está considerado como uno de los hospitales mas antiguos de Europa, fue fundado en 1401 por Bula firmada por el Papa Luna, Benedicto XIII en la Ciudad de Aviñón. En él había estado alojado el Real Colegio de Cirugía de Barcelona desde 1760, cuando fuera creado por Pere Virgili. También acogió los estudios de Medicina desde 1843 cuando abre sus puertas la Facultad. En la actualidad es la sede de la Real Academia de Medicina de Cataluña.

HOSPITAL DEL SAGRADO CORAZÓN. BARCELONA. 1879

Se ha denominado «cuna de la moderna cirugía española», fue fundado en 1879 por iniciativa de la burguesía catalana, recibiendo el nombre de Hospital de Nuestra Señora del Sagrado Corazón de Jesús, aunque se le conozca en la ciudad por la abreviatura del Sagrado Corazón. Dice Joan Agustí i Peypoch (1983) que este hospital ya desde su comienzo fue concebido como un centro de especialidades, siendo el primer hospital de la ciudad de Barcelona de la época moderna y donde floreció una importante escuela quirúrgica encabezada por Salvador Cardenal Fernández (1852-1927), valenciano de nacimiento y, genuino representante de la Cirugía antiséptica en nuestro País. Fue Director del Centro desde su fundación hasta 1927 (45).

Sin acabar el siglo xix Cardenal y su equipo logran un gran acierto quirúrgico. Son capaces de derivar el estómago estenosado en su píloro o antro a un asa de intestino con éxito. Y así empieza la cirugía de las vísceras digestivas. Esta técnica se consideró la panacea quirúrgica del momento. Véase los títulos y fechas de las comunicaciones académicas, con las aportaciones matritenses de Ribera, Cervera, etc., en Madrid.

Será Enrique Ribas i Ribas (1870 Vigo-1935 B.), quien a partir de 1910, divulga la cirugía de las vías biliares con sus publicaciones, en Anales de Medicina (1) (3). En 1920 publica las indicaciones de la cirugía del estómago (2). Y ya en 1927 da a conocer «El tratamiento quirúrgico de la litiasis biliar» (4). Y con hacer de maestro tutela a otros jóvenes cirujanos.

De la España de 1915 dice Pi-Figueras, con razón, que: «la gastro-enterostomía dejó de ser infrecuente para convertirse en habitual

así cómo algunas resecciones de tumor gástrico». (6) Y efectivamente, rastreando las primicias quirúrgicas comunicadas en las Reales Academias y las hemerotecas se encuentran, también, los nombres de los que podemos llamar precursores o pioneros.

Fargas, contestando a Bartrina, en la Real Academia de Cataluña, puntualiza: «que si antes en la cirugía del estómago se estaba pendiente de que viniese, Doyen desde París, en el año de 1915 ya lo operan en Barcelona, habitualmente, Cardenal, Álvaro Esquerdo, Morales, Ribas i Ribas, Torres, Jacint Raventós, Estapé, Pujol y otros muchos jóvenes pudiendo reunir más de un millar de casos de esta cirugía». (5)

Esta técnica de derivación gastro-intestinal tuvo su indicación durante largos años en los casos de estenosis pilórica, causada ya por ulcera benigna o por tumor de estómago. Era operación sencilla de realizar, de poco riesgo y muy satisfactoria para el enfermo que dejaba de vomitar.

Cardenal, falleció en 1927 en Barcelona. Su servicio de cirugía fue dividido en dos que fueron dirigidos por sus discípulos de entonces: Servicio A.-Alfredo Castellá i Vía y Servicio B.-Joan Marimón i Carbonell.

Igualmente se segrega de la Cirugía General la Ginecología, cuando esta empieza a tener personalidad propia siendo tutelada por Jesús Pérez-Rosales y Arturo Galofré.

Marimón (1882-1939), fue hijo de catalanes nacido en Puerto Rico, estudió en Barcelona, y siguiendo los pasos europeistas de Cardenal amplió estudios en Berna con Kocher, y en Berlín traduciendo el «Tratado de Técnica Quirúrgica» de Schmieden, 1923.

A mediados del siglo XX, en el Hospital del Sagrado Corazón, ocuparon cargos de jefes del servicio de cirugía: Joan Agustí i Peypoch (n. 1909), discípulo de Marimón, que había desempeñado el cargo de médico de guardia del H. Clínico, y que sería Presidente de la Sociedad Catalana de Cirugía. Durante su tiempo el Hospital experimentó un gran crecimiento y prestigio. Se jubiló en 1980; Agustín Sarrias i Suaña (n. 1902); Víctor Salleras i Llinares (n. 1915) Figueras (Gerona), quién proviene del Hospital de San Pablo y fue Académico C. de la R. A. M. de Cataluña; y más hacia nuestros días Ricardo Camprodón i Bertrán, formado en el H. de San Pablo.

MODERNA FACULTAD DE MEDICINA EN BARCELONA 1879- INAUGURACION DEL HOSPITAL CLINICO 1907

La actual Facultad de Medicina en la calle de Casanova 143, abre sus puertas, para los estudiantes, en 1907. Asociado a la misma se edifica un Hospital Clínico. En la gestación de esta nueva Facultad tuvo mucho que ver la tenacidad del eminente profesor Joan Giné i Partagás, quien no verá realizado el Hospital pues falleció años antes, y los señores Silóniz, Valentín i Vivó y Coll i Pujol.

Recordamos algunos docentes de cirugía en Barcelona todos ellos nacidos en el siglo XIX y cuya labor se solapa en años del primer tercio del XX, fueron: Joan Giné i Partagás (1836-1903) Profesor de Cirugía desde 1871 a 1903, junto a él se formaron los que serían figuras eminentes: Sebastián Recasens, después catedrático en Madrid y obstetra que fue de la Reina Victoria Eugenia, E. Saconella, V. Azcarreta y A. Martín.

De la escuela obstétrica y ginecológica encabezada por el Catedrático Miguel Angel Fargas i Roca (1858-1917) debemos mencionar a Jacint Raventos, que más tarde se dedicará a la neumología, como jefe del servicio de cirugía del PNA y en el H. San Pablo; Luis Frontasa, Enrique Noguera, Pere Nubiola i Espinos (1878-1956), ocupa la cátedra después de Fargas, y Víctor Cónill i Montobbio (1886-1970), todos ellos ginecólogos destacados.

Ejercieron como docentes en cirugía, en distinta categorías: Antoni Morales Pérez (n. 1858), quien se jubila en 1918; Luis Guedea i Calvo (n. 1860); Francesc Rusca i Doménech (1868-1909); Octavi Gil Saltor i Loevel (1862-1909), Catedrático de Cirugía en Barcelona en 1892-95 con él se formaron Jaime Peyri, dermatólogo; Ramón Torres Casanova (1877-1922), Enric Ribas i Ribas (1870 Vigo-1935B), Josep Bartrina Thomás (1877 Barcelona-1950), ingresó en el cuerpo de profesores en 1911 destinado a Granada de donde pasó a Zaragoza y después a Barcelona; y Batlles i Planellas (1888-1922), que se jubila en 1918. Baró de Bonet catedrático de Obstetricia y Gine en 1905, fallece en 1913. Y Manuel Serés i Ibars (1888-1928),

En 1907, y por los veinte años siguientes, ocupa la cátedra de Anatomía y Técnica Anatómica, de primero, el cirujano Antoni Riera i Villaret, quien seguía al pie de la letra el libro del francés Testut, que ha sido la Biblia anatómica que ha guiado a generaciones de profesores y estudiantes por más de medio siglo. Y el 2º curso de las mismas materias, Riera i Cercós, de quien dice Gibert-Que-

raltó que le llamaban la «La bicicleta anatómica» por la rapidez con que explicaba (44). También daba clase de Anatomía Serés Ibars.

Es importante para la docencia médica la Real Orden de 1915 por la que se crean las cátedras de Otorrinolaringología, Dermatología y Ojos. Ello oficializa una corriente especializante mundial. En este sentido Barcelona ha tenido importantes médicos, alcanzando algunos de renombre internacional. Véase en el campo de la oftalmología, la otorrinolaringología, la cirugía plástica, cardiovascular, torácica, neurocirugía, o cirugía pediátrica, etc. Nombres que están en el recuerdo de todos nosotros.

Pere Nubiola i Espinós (1878-1956) ganó en 1917 la cátedra de Obstetricia y Ginecología de Barcelona, es recordado como un gran docente practico, decían que sus manos en el parto hacían como el mejor fórceps (44), fue padre de Joaquim Nubiola Sostres, nacido en 1910 en Barcelona profesor auxiliar de Obstetricia y Ginecología en esa ciudad.

En 1929 son profesores de la Facultad también: Martínez García, Agusti Pedro-Pons (Médica), Andrés Martínez-Vargas (Pediatria) a quien los estudiantes llamaban Herodes, August Pi Suñer (Fisiología), Ferrer-Cagigal (Histología y Anat. Patológica). Mariano Soria-Escudero (Ojos), y Fernando Casadesús-Castells (n. 1881 Madrid), es profesor de Otorrinolaringología desde 1926 en que saca la cátedra y Jefe de Servicio hasta 1945.

Sin acabar los años 20 y en la década de los años 30, la Cátedra de Anatomía Topográfica y Operaciones, más tarde llamada Terapéutica Quirúrgica, estaba cubierta por el cirujano Joaquim Trías i Pujol (1887-1964), quien también regentaba la de Técnica Quirúrgica, y en 1931 figura como Decano. En su práctica quirúrgica sigue las directrices del traumatólogo austriaco, a quien conoció, Lorenz Böhler, paradigma de la moderna traumatología de la época, y autor del libro «Técnica del Tratamiento de las fracturas», traducido por su colaborador, F. Jimeno Vidal en 1934. Ed. Labor. Cuando se quiera escribir sobre la emancipación de la Cirugía Ortopédica en España, siguiendo las corrientes europeas y americanas, habrá que tener presentes los nombres de Trías, Jimeno, Bastos, Trueta, Argüelles, Gomar, Sanchis Olmos, etc y unirlos con aquellos que en 1935 fundaron la Sociedad Española de Ortopedia y Traumatología (SECOT) (47).

También es Catedrático de Cirugía Antóni Trías i Pujol (1891-1970), cuatro años menor que su hermano Joaquim, de quien nos recuerda Ramón Trias (25) que «cuando vio expuesto en el pabellón

de Francia de la Exposición Universal de 1929 el aparato de anestesia Ombredanne, que regulaba la entrada de éter a voluntad del anestesista, lo adquirió y lo puso a disposición de José Miguel Martínez (1907-1998), posteriormente creador del conocido O .M. O. (Ombredanne-Miguel-Oxford)». Convirtiéndose en pionero de la moderna anestesiología en Barcelona.

Antoni Trias, tendrá un papel significativo en alentar la fundación de los estudios autónomos de medicina, años más tarde, lo cual le acarreará disgusto y consternación.

Ya en la década de los años 30, la cátedra de Anatomía fue tutelada por Manuel Taure Gómez (1903 Murcia-1979), quien obtuvo la plaza por oposición en 1932 en Barcelona, y la desempeñará por muchos años, con gran renombre.

Más jóvenes, nacidos en los últimos años del siglo o principios del xx aparecen los que serán docentes de siguientes generaciones: D.P. Sala y María (1896) cirujano de digestivo; Francesc Salamero Castellón (n. 1898), encargado de cátedra; Pere Piulachs i Oliva (1908-1976), catedrático de Patología Quirúrgica inicialmente en Santiago, que pasó después a Zaragoza y de allí a Barcelona; Francesc Vidal Barraquer (n. 1916 Barcelona), profesor adjunto de la Cátedra de Piulachs, Jefe del Servicio de Cirugía Vascolar.

ALIANZA MEDICO-QUIRÚRGICA. 1904

La Quinta de Salud La Alianza, de Barcelona, nació como una mutualidad cooperativista de camareros y autónomos en 1904, por lo que se supone antecesora de la Seguridad Social en España. A partir de 1939 se convierte en la mayor mutualidad del país. Se empiezan a establecer los servicios por especialidades. En esta clínica han ejercido brillantes cirujanos a los cuales haremos referencia a partir de 1950.

FUNDACIÓN DEL HOSPITAL DE LA SANTA CRUZ Y SAN PABLO. 1919

El hospital fue edificado en una parte alta de la ciudad en un barrio conocido como Guinardó, alejado del original núcleo urbano. A su acceso se llega por una gran avenida que arranca del lugar donde se iniciaba por entonces la obra espectacular del genial arquitecto A. Gaudí, la Catedral de la Sagrada Familia (11) (12).

Realmente se consiguió una obra de arte, pero no un hospital funcional. Surgió un conjunto artístico distinguido, verdadera joya del modernismo catalán, más que un centro hospitalario asistencial, que es lo que se pretendía fuese su destino final.

En su fábrica han quedado muestras de importantes artistas contemporáneos, como Pablo Gargallo y Eusebio Arnau, renombrados escultores; pinturas de Francisco Labarta, y las inigualables cerámicas debidas al genio de Mario Maragliano.

Los pabellones están comunicados por una red vial, incluso algún pasadizo subterráneo y todo este conjunto arquitectónico sanitario que inicialmente estaba previsto construir con cuarenta y ocho pabellones, fue continuado a partir de 1911 por el arquitecto Pere Doménech i Roura.

El hospital ha sido declarado Monumento histórico-artístico de carácter nacional en 1978. En 1997 la Unesco señala al Hospital Patrimonio de la Humanidad. Cuatro años más tarde la Generalitat le distingue con la Medalla de Oro.

ESPECIALIDADES QUE SE VAN CONFIRMANDO INDEPENDIENTES DE LA CIRUGIA GENERAL

La fragmentación de la cirugía general en especialidades responde a una actitud mundial imparable y tuvo especial incidencia en la cirugía catalana, que se sumó a esta corriente, de tal forma que son numerosos los profesionales que se pueden considerar precursores o pioneros en sus respectivas materias.

CONGRESO DE VARSOVIA DE 1929

En 1929, con motivo del Congreso de Varsovia de la Sociedad Internacional de Cirugía dice Pi-Figueras: «la aportación de la cirugía gástrica española, representada por Ribas, Bartrina y Puig-Sureda, ponentes oficiales destacaron al lado de las primeras figuras mundiales, la gastrectomía en el tratamiento del úlcus llegó a ser el método habitual en las manos de Ribas y Corachán». Y esa corriente gastrectomizadora fue la norma de los magníficos cirujanos de esa época que podríamos citar. Las resecciones gástricas por úlceras o cáncer, tan frecuentes en estos tiempos, se realizaron por miles, en

los principales hospitales españoles. Y se empiezan a conocer cirujanos de leyenda como León Cardenal, Urrutia, García Barón, Gómez Morán, González Bueno, Vara López, Martín Lagos, Pera Jiménez, Lozano Blesa, Puente Castro, Baltar etc. y en cada región de nuestra geografía hay un cirujano experimentado en esta intervención (46).

HOSPITAL DE LA SANTA CRUZ Y SAN PABLO. BARCELONA. 1930

El nuevo hospital de la Santa Cruz y San Pablo, con capacidad definitiva para novecientas camas, empezó a recibir enfermos en 1919, siendo a partir de esta fecha cuando se establecen los servicios básicos del hospital. Fue primer jefe del servicio de cirugía Álvaro Esquerdo i Esquerdo de la escuela de Cardenal. A su fallecimiento en 1921, ganó la plaza de cirugía Manuel Corachán García (1881 Chiva-1942 B), valenciano, discípulo de Ribas i Ribas, formado en Cirugía y Traumatología, entre otros ,con Sauerbruch en Munich. Corachán se Licenció en Medicina en Barcelona, incorporándose al Hospital de San Pablo en 1921 donde llegará a Jefe de Servicio, y siendo nombrado profesor de Cirugía cuando se crea la Autónoma. Entre sus obras destacar «La cirugía en los procesos abdominales agudos» 1926, «Clínica y terapéutica quirúrgica de urgencia» con Doménech Alsina y un «Diccionario Médico» 1936. En 1930 presenta Corachán su libro la «Cirugía Gástrica» en dos tomos ,una obra documentadísima en el que recoge no solo su experiencia ,sino las corrientes americanas y anglosajonas, convirtiéndose en un texto insustituible para todos los cirujanos españoles.

Su vida y el análisis crítico de su obra puede ampliarse en base a la tesis de Víctor Julio Marí Balcells (1981) (31).

En el Servicio de Corachán estaban antes de la contienda nacional del 36-39, Joan Prim i Rosell, para la sala de hombres; Josep Trueta i Raspall, para dispensario y Jaume Pi-Figueras, para la sala de mujeres; también se encuentra en el servicio Corachán Llord, hijo de Manuel Corachán, que falleció a los 25 años en la guerra, y Vicente Artigas i Riera.

Los servicios de Cirugía General comprendían secciones que más tarde serán especialidades independientes, de tal forma que tanto la docencia como la asistencia tenían como jefe o director del servicio una cabeza única. Entre los especialistas: Vicenc Compañy, urólogo y subdirector; y como traumatólogo, Vilardell i Permanyer.

CREACION Y CORTA TRAVESÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA AUTONOMA EN EL HOSPITAL DE SAN PABLO EN TIEMPOS DE LA SEGUNDA REPUBLICA. 1933

Relata Llauradó (1982), en su discurso de entrada en la Real Academia de Medicina de Barcelona, como en 1933 se crea la Facultad de Medicina Autónoma en el Hospital de San Pablo, empezando el curso en Octubre, y dotándose con este motivo, dos cátedras de cirugía, por nominación, de las cuales serán titulares: Manuel Corachán García y Enric Ribas i Ribas. (23)

Además fueron nombrados profesores agregados para quirúrgicas; Puig i Sureda, y Antoni Trías i Pujol. Y auxiliares Josep Trueta y Jaime Pi-Figueras. Y Victor Conil, catedrático, para Gine, por traslado desde Santiago, y Roca de Vinyals en otorrino etc.

Y ese mismo año de 1933 dieron comienzo las clases en el Hospital de San Pablo. El proyecto tan solo duró ese curso. El 6 de Octubre de 1934 fue suspendido todo el Patronato por la República. Se les acusaba de que siendo el proyecto bueno, en cambio, había derivado a la pretensión de catalanizar la Universidad, con la imposición del idioma catalán en las aulas. Cuando Antoni Trias regresó de visitar al Ministro de Instrucción Pública en Madrid, para tratar de arreglar la situación, por la información recibida, dijo «Si és així, la Universitat està perduda» (25). Fue temporalmente encarcelado con otros miembros del Patronato.

Año y medio después vino la guerra de 1936 finalizada en marzo de 1939 y, a partir de entonces no se volvió a hablar de la Autónoma, en Barcelona, donde tan solo tuvo una andadura de cinco meses (del 1-XII-1936 a 1-IV-1939) (53) ni en Bilbao que duró el curso de 1937 (53).

SECUELAS EN EL HOSPITAL DE SAN PABLO Y EN EL PROFESORADO DE LA FACULTAD, POR LA GUERRA DE 1936-1939.

La guerra, trajo, tremendas consecuencias, un sin fin de cambios de toda naturaleza, y el éxodo de algunos profesionales médicos del Hospital, como Manuel Corachán, Josep Trueta i Raspall y otros muchos menos conocidos, a los que hace referencia F. Guerra en su obra «Los médicos del Exilio Republicano» (35).

E igualmente en la Facultad de Medicina también habrá ausencias notables como la de Pi-Suñer y Joaquim Trias i Pujol, que se

exilia inicialmente con su familia Francia, después a Mendoza (Argentina) dos años, donde funda la cátedra de Patología Quirúrgica en la Universidad de Cuyo, y finalmente se afincó en Andorra.

Su hermano Antoni se establece en Bogotá. Habrán de pasar años para que se rehabiliten sus figuras y como homenaje el Hospital de Badalona lleva, hoy, el nombre de Germans Trias i Pujol.

En Barcelona otros cirujanos no se marcharon pero fueron sancionados. Moisés Broggi i Vallés (n. 1908 B.), casado con una hija de Joaquim Trías, sufre también los rigores de la depuración política, por haber colaborado con la sanidad militar de la república, con el cargo de Mayor, siendo condenado a no desempeñar cargo público de por vida. Su formación profesional arranca del Hospital Clínico donde colaboró con Piulachs y desempeñó el cargo de Cirujano de Urgencias. Su tesis doctoral «Reacciones vasculares periféricas», está firmada por la Facultad de Medicina Autónoma en 1935, como único caso reconocido por la Universidad Central. Brillante cirujano general, en 1961 publicó «Experiencia en toracoplastias en casos límite de tuberculosis pulmonar. Y en ese mismo año da a conocer «La Patología del Sistema Portal», convirtiéndose en un pionero de la derivación porto-cava.

Fallecido Corachán en 1942 y vacante la plaza de Jefe de Servicio de Cirugía de San Pablo es cubierta por Joan Puig Sureda i Sais (1880 Albans-B.1978), procedente del Hospital Clínico, donde había trabajado como Profesor Auxiliar. Será el gran maestro de las décadas siguientes. Fue Agregado de la Facultad de Medicina Autónoma (1933-1934). Cofundador y Presidente del Instituto Policlínico o Clínica Plató. En 1967 le fueron entregadas las llaves de la Ciudad de Barcelona como reconocimiento a su labor profesional. Miembro de la R.A.M.C., su plaza vacante fue ocupada en 1977 por José María Gil-Vernet Vila quien leyó el discurso «Trasplante Renal» y contestado por Moisés Broggi i Vallés.

La especial colaboración de Puig Sureda con el pionero de la clínica digestiva Francesc Gallart i Monés, que viene trabajando esta especialidad desde 1913, trajo como fruto el nacimiento del primer servicio de cirugía digestiva del país en el H. de San Pablo. A partir de 1946 Puig i Sureda inicia los cursos de postgraduados que tanto predicamento han tenido entre los médicos, y que con distintos directores han durado hasta nuestros días.

SERVICIOS DE CIRUGIA EN EL HOSPITAL DE SAN PABLO A MITAD DEL SIGLO XX

Jubilado Puig Sureda, a partir de 1950 los Servicios de Cirugía del H de San Pablo serán reorganizados y cubiertas sus plazas, alcanzando un nivel puntero en el país. Se crean tres servicios:

El Servicio A, dirigido por José Soler i Roig (n. Barcelona), educado en Suiza, quien participó, activamente como cirujano general, en la guerra española con los nacionales en San Sebastián, el cual pone a punto técnicas de esfinterotomía de Oddi, realizando la primera en España y las esofagoplastias pre y retroesternales con intestino grueso. Su libro «La Cirugía del Cáncer de Recto» (1956), con Sitges, recoge sus preocupación por este tema. Le dedica a «J. Soler Juliá, con respeto y cariño».

Soler, impulsó la Revista Anales del Hospital dándole una amplia difusión. Su conocimiento del inglés y dedicación le permitió desarrollar en España el Colegio Internacional de Cirujanos. Su equipo contó con la ayuda de Antoni Sitges i Creus, que mas tarde será a su vez Jefe del Servicio y protagonista preclaro de la cirugía catalana. «Y Josep A. Curto i Cardús destacando en la cirugía esofágica. Y el salmantino Sánchez Ortega.

En el Servicio de Cirugía B, lo dirige Jaume Pi-Figueras (1900 Pals-1991 Barcelona), sucesor directo de Corachán, eminente maestro, con esa capacidad que solo disponen algunos de saber aglutinar en su equipo un plantel de brillantes cirujanos. Destaca muy identificado con él, Vicente Artigas Riera de origen valenciano, Pío Andrés i Torras, Antonio Giménez Salinas (C. General y Proctología), y el más joven en ese momento y continuador en la jefatura del servicio Jorge Puig La Calle, al que nos referiremos más adelante.

Los libros salidos de la pluma de los integrantes del servicio que despertaron interés fueron: «Cirugía del Cáncer de colon y Recto» (1958), «Tratamiento pre y post operatorio», con Doménech Alsina, etc. Su equipo quirúrgico era numeroso abarcando gran parte de la cirugía general por secciones. En Vascular: Luis Oller i Crousier ;en la investigación funcional del páncreas Maria Teresa Ribera que tutela el primer laboratorio en esa materia, de nuestro país; los cirujanos Castell, Olsina, Pere Estelrich i Capó, Ramón Brull i Orriol, Joan López Gilbert, Josep Bonnin i Bonnin, Francesc Manuel i Nogueras. Jordi Olsina i Pavía, Pi-Figueras Badia, etc. Fueron internos los gallegos Hortas y Morán, el argentino Luis Gramática y más tarde el salmantino Fernando Casado Martín.

En 1984 sale a la luz la Enciclopedia «Práctica Quirúrgica» Ed. Salvat (1984), dirigida por J. Pi-Figueras y con la colaboración como secretario de Vicente Artigas Riera, y Secretarios de redacción: J. Jover Biosca, F. Manuel Nogueras y J. Pi-Figueras Badia. Una obra colectiva de esta naturaleza tiene el enorme mérito de haber logrado entusiasmar a un equipo de médicos muy amplio y heterogéneo, no sólo de su propio servicio, si no de otros Centros de Barcelona. Su plan de trabajo lo distribuyó en cinco tomos.

El Servicio de Cirugía C. más dedicado a la cirugía del digestivo por su mayor vinculación con la Escuela de Digestivo que dirige desde 1963 Francesc Vilardell i Viñas (n. 1926 B.), después de la jubilación de Pinós. Está integrado por los cirujanos Joan Prim i Rosell, ya en edad avanzada, en esta época de la narración, poseedor de una personalidad equilibrada y pulcra; y un cirujano de extraordinaria habilidad, metódico y riguroso en su técnica quirúrgica como fue Antoni Llauradó i Tomás, quien tuvo, en su momento, una valiente asistencia quirúrgica en los hospitales de campaña de la República, en Teruel y, que supo transmitir a generaciones su buen hacer, destacando en todo lo relativo a la cirugía del aparato digestivo.

En el mismo equipo está el entonces joven, Ramón Trías i Rubiés, quien años más tarde será el Jefe de Servicio. Y deben citarse los nombres de colaboradores como: Alfonso Olivé i Badosa, Fernando Peñalva Trincado, Manuel Guix Santasusagna, y los que fueron internos: Xavier Bastida Vila, y Francisco Vázquez de Quevedo, etc.

LA FACULTAD DE MEDICINA DE BARCELONA EN LOS AÑOS 40, 50, 60, 70

José María Bartrina Thomás (1877 B.-1950 B.), estudió y se licenció en medicina en Barcelona. Amplió estudios en París en el Hospital Necker y allí colaboró con el pionero de la urología Joaquín Albarrán. A su regreso a España ganó la oposición en 1911. Fundó la Asociación Española de Urología. Ingresó en la Real Academia de Medicina de Cataluña en 1915, leyendo «Notas sobre cirugía Gástrica. Afecciones Benignas gastro-duodenales». siéndo contestado su discurso por Fargas i Roca. Fueron treinta y cinco años los que ocupó la cátedra de patología Quirúrgica en Barcelona desempeñándola, con dignidad, hasta 1948 dos años antes de su muerte. Es por ello que generaciones de estudiantes en Barcelona pasa-

ron por su magisterio. Esta cátedra al faltar Bartrina fue asociada a la de Piulachs.

Tuvo entre sus alumnos y más tarde colaborador al mallorquín Pedro Aguiló i Aguiló (1910-1993), cirujano que asistió a las tropas nacionales que entraron en Madrid en Marzo de 1939 y que continuaría la carrera en el cuerpo de Sanidad Militar. Perteneció a la Real Academia de Medicina de Baleares, ciudad esta donde asienta definitivamente su brillante ejercicio profesional.

Manuel Serés e Ibars (1888-1928) más joven que Bartrina, se ocupa de la segunda cátedra de Patología Quirúrgica e igual que él, está empeñado en el desarrollo de la Urología, como especialidad independiente de la cirugía general, la cual ejerce hasta su prematura muerte.

Salvador Gil Vernet (1892 Vandellós-1987), tuvo el prestigio del sabio profesor. De recia personalidad cabe destacar de él su faceta investigadora dejando más de 20.000 cortes histopatológicos. Fue colaborador de Serés y sucesor en su cátedra. Alcanzó la Licenciatura en 1915 con Sobresaliente. Fue preparador anatómico de la cátedra de Alejandro Planellas. En 1919 tras leer su tesis es nombrado Profesor auxiliar de anatomía, cátedra que tutelaba Emilio Sacanella (1860-1931). Sacó la cátedra de anatomía de Salamanca, fue brillante como anatómico y titular de la cátedra en Barcelona, por concurso de traslado. Se había formado como urólogo con Gabriel Estapé. La gran capacidad de trabajo que le llevó a describir novedades anatómicas como el esfínter interno de la uretra que lleva su nombre y diseñó técnicas de abordaje de la cirugía prostática. Temas que describe en su «Tratado de Patología Urogenital». Fue Presidente de la Sociedad Internacional de Urológica y renovado en el cargo. En 1954 la Sociedad de Urología Italiana y Francesa propusieron su nombre para la selección del Premio Nobel. Fue distinguido con la Medalla de la Legión de Honor Francesa

En 1936 fue destituido por el Gobierno de la República de su plaza académica por no apoyar el proyecto de una Universidad Autónoma, ajena a la Estatal Central, y firmar el manifiesto contra el asesinato de Calvo Sotelo. Hubo de exiliarse a Toulouse de donde regresa en 1939. Su Escuela Profesional de Urología es reconocida a partir de 1954. Gil Vernet da lugar a una dinastía de urólogos de prestigio internacional, como José María Gil-Vernet Vila (n. 1922 Barcelona), y los hijos de este Gil-Vernet Sedo.

Las otras dos cátedras que fueran tuteladas por Joaquím y An-

tonio Trias, ausentes desde 1939, se cubren en diferentes fechas por los profesores Piulachs, en primer lugar, Arandes más tarde y Pera, que accede a una tercera, veinte años después.

Pere Piulachs i Oliva (1908-1976 B.) fue una personalidad superior, un magnífico cirujano con sensibilidad de poeta, en cuya materia alcanzó un premio Nacional en 1976 con el título «La luna salió del campo». Aglutinó en su servicio a cualificados profesionales. Realizó una obra escrita importante. Sus «Lecciones de Patología Quirúrgica» (1955) en cuatro tomos, han merecido varias reimpressiones, en ellos aborda de forma clara la patología general, vascular y traumatológica. Ingresó en la RANM en 1974, leyendo el discurso «El sentido del dolor» siendo contestado por Vara López. Ocupó el sillón n.º 6 que había correspondido al genial Agustí Pedro i Pons y de quien dijo: «de Pons, aprendí a aprender, aprendí a enseñar».

Ramón Arandes Adán, nacido en Ceuta (17-X-1912), hijo de un militar catalán y madre aragonesa, pertenece a la escuela de Piulachs. Cursó la carrera en Barcelona y fue interno de anatomía con Riera Villaret, con Martínez García, y Antoni Trias i Pujol. Durante la Guerra Civil prestó servicios como cirujano, en el Ejército del Este, XI Cuerpo del Ejército de la República, en el Hospital de Campaña de Sanaüja, durante ocho meses, alcanzando el grado de Mayor médico. Obtuvo la cátedra de Cirugía, que había desempeñado Bartrina, en 1952.

Fue exigente como docente pero acogedor y próximo con sus alumnos. Tiene una obra escrita «Afecciones de la vía biliar principal» (1961), que merece ser tenida por la obra documentada y más completa en bibliografía hasta el momento. Fueron coautores, los colaboradores más próximos; J. Ballester Perís, R. P. Alcalde González y J. Osso Pijoán. La colaboración con Gil-Vernet, realizando las autoplastias de vejiga usando colon fue una de sus mejores aportaciones. En su servicio tuvieron lugar los afamados cursos de Angiología y Cirugía Vascular, dirigidos por F. Vidal-Barraquer y J. Osso Pijoán.

La trayectoria universitaria de Arandes merece reconocimiento por su labor. En 1974 fue distinguido con la Gran Cruz de Sanidad, estuvo en posesión de la Cruz al Mérito Melitense (Orden de Malta) y la Gran Cruz de Podología Española 1985, justificado por el interés y apoyo a esta patología, impulsada por Antonio Viladot Pericé (f. 16-X-2001).

LA CIRUGÍA DE LA ULCERA GASTRODUODENAL A MITAD DEL SIGLO XX

Se suscitó mundialmente una controversia, a mediados del siglo xx, sobre qué operación, sería mejor para curar la úlcera gastroduodenal. Si no había unanimidad de opiniones en los Congresos y Academias de la época sobre que operación era más resolutive para curar definitivamente la úlcera, en un mismo hospital tampoco había similitud de criterios. En el H. de San Pablo en el Servicio dirigido por Soler Roig, para casos difíciles de úlcera duodenal, verán con buenos ojos la vagotomía con gastrectomía, y si hay dificultades para hacer un Billroth I, no forzarlo y hacer un Billroth II.

En el Servicio de Pi-Figueras se preconizaba la vagotomía más antrectomía, y su magisterio se extendió a los cirujanos que seguían su ejemplo.

Por su parte, en el Servicio de Cirugía C, Llauradó, realizaba de forma sistemática desde 1959, la vaguectomía troncular bilateral y la antropiloroduodenoplastia a lo Heineke-Mikulich en los casos de úlcera duodenal, y la antrectomía si se trataba de una úlcera de estómago. Los buenos resultados curativos y la baja mortalidad hicieron que esta técnica contase con numerosos seguidores en el país.

LA QUINTA DE SALUD LA ALIANZA 1950

Muy cerca de San Pablo en la Quinta de Salud Alianza, en la calle San Antonio María Claret, tutela el servicio de Cirugía General y Digestivo Josep Másferrer i Oliveras, quien en la enfermedad ulcerosa hace la gastrectomía, pues considera, más agresiva metabólicamente hablando, la vagotomía troncal bilateral, que la resección. Masferrer fue distinguido con el Premio Virgili y recibió la Orden Civil de Sanidad en 1979. En 1959 encargados de la neurocirugía fueron Crespo y el Dr. Campillo. A partir de 1957 los doctores Tolsosa y Ley. Responsable de la cirugía cardiovascular fue Miquel Puig Massana. Y Jacint Dargallo Reventós (n. 1923) como Jefe de Cirugía Pediátrica desde 1959.

En este centro también ejercen los cirujanos generales: Eduardo Basilio i Bonet, Josep Alabern Planell, Cortadellas, Durán, Mata, Pere Bonet i Gari, Alfonso Payá i Agustí, Felipe Lara Eischmann, y estaba establecido uno de los primeros servicios de cirugía proctológica

del país tutelado por el mallorquín Jacinto Arán Suau, titular también del H. de San Pablo, especialidad que continua su hijo Arán Rigau.

Desde 1967 se responsabiliza del servicio de urgencias al cirujano general, de origen gallego, Lino Torre Eleicegui quien proviene del refundado Hospital General del Mar, y vinculado a la escuela de Soler Roig. Se nombra nuevo director, cargo que recae en el cirujano Augusto Salazar Palau, quien impulsa el Centro e inaugurará un nuevo edificio hospitalario.

LA GRAN CIRUGÍA EN LA MITAD POSTERIOR DEL SIGLO XX

Al igual que pasase con la primera Guerra Mundial ,que entre otras muchas cosas ayudó a conocer la viabilidad de las transfusiones de sangre y la asistencia a los grandes heridos en el campo de batalla, colocándoles la férula de Thomas, o la tracción continua en cama con férula de Braun en los fracturados de extremidades inferiores. En la guerra española también se vio la utilidad del escayolado inmediato a todos los fracturados de extremidades, y ya en la segunda guerra mundial los cirujanos centroeuropeos adquirieron una experiencia considerabilísima y ya están preparados para el advenimiento de la gran cirugía de esa época.

Finalizada la segunda gran guerra y los cirujanos se adentran, ya sin temor en el abdomen, en el tórax, en el cráneo, e incluso introducen el dedo en las mismas válvulas cardíacas con objeto de dilatarlas y, esto sin circulación extracorpórea.

Y en la cirugía del digestivo se comunican las extirpaciones del esófago abriendo el tórax y sustituyéndole por intestino o estómago; resecciones completas de estómago, o parciales de hígado; extirpaciones del duodeno o del páncreas; resecciones masivas intestinales, o de recto colon. En todas las especialidades quirúrgicas es de admirar las nuevas proezas y la osadía de los cirujanos parece no tener límites. Y estamos a mitad tan solo del siglo xx. La mitad posterior nos sorprenderá aun más con mejor práctica quirúrgica favorecido por la construcción de los grandes hospitales del Seguro de Enfermedad, el desarrollo de la anestesia general, y la moderna tecnología aplicada a la medicina.

NUEVO HOSPITAL DEL SEGURO EN BARCELONA EN 1952

En la residencia Vall D'Hebrón gestionada por el Institut Catalán de la Salud siempre estarán presentes los nombres de sus primeros jefes quirúrgicos, allá por los años 60: Josep Bonnin Bonnin, Emilio Sala Patau, Mariano Bonafonte Fernández, Josep Curto Cardús, Rafael Sobregrau i Augé y Jorge Olsina i Pavia. Todos ellos cirujanos generales que cosecharon una amplia experiencia en las patologías urgentes con alto riesgo vital: traumatizados, sangrantes, peritonitis neumotórax etc. Constituyen una generación profesional de alta estima. En Urología destaca F. Soler Balcells.

HOSPITAL DE SAN PAU Y LOS CAMBIOS DE 1965

En el año 1965 en el Hospital de San Pablo se funda un moderno servicio, magníficamente dotado con destino a las urgencias quirúrgicas, encargándose de su dirección a un eminente cirujano, vinculado al grupo de Pi-Figueras, es Vicente Artigas Riera (1908 Valencia-1975 B.), quien por esas fechas da a la luz un libro sobre «La cirugía Pancreática», patología que constituyó su gran pasión. En este nuevo servicio estuvo acompañado de una pléyade de jóvenes expertos en cirugía general como fueron: Josep Jover Biosca, también del Servicio de Pi-Figueras, habilidoso en endoscopias esofágicas con tubos rígidos, y Joan Piera Mas-Sardá llegado de Estados Unidos, etc., los cuales muy pronto pudieron recoger su experiencia en un libro: «Cirugía de Urgencias».

Otros cambios en el hospital de San Pablo fueron a la jubilación de Pi-Figueras, el breve nombramiento de Pío Andrés Torras (1917-1979), como director del servicio, cargo continuado por la brillante personalidad de Jordi Puig Lacalle i Cusi (1925 Vilanova-2002 B), quien siguió con los cursos internacionales de cirugía general y del aparato digestivo.

También en San Pablo en el servicio de Cirugía digestiva de Llau-radó se dio paso como jefe del mismo a Ramón Trias Rubiés, hijo del profesor Joaquín Trias y yerno del paradigmático Puig Sureda, vinculado a ese servicio por largos años de fructífero trabajo y del que cabe destacar su conocimiento anatómico, su magisterio en la cirugía de la hipertensión portal y su pragmatismo al abordar problemas quirúrgicos.

OTROS HOSPITALES DE BARCELONA

En ese mismo año de 1967 existen otros centros como el de la Beneficencia Provincial de Barcelona, el **Hospital de Nuestra Señora del Mar**, su jefe de cirugía: Lino Torre Eleicegui; el **Hospital de Nuestra Señora de la Esperanza**, siendo titular de Cirugía: Joan Lluch Caralps; el **Hospital de San Pedro Claver** con los jefes de servicio: Manuel Guix Santasusagna y M.Sarró Palau. El **Hospital de Nuestra Señora del Sagrado Corazón de Jesús**, con los jefes de Cirugía: Josep Paravisini Parra y Joan Agustí Peypoch y después Camprodón El **Hospital de la Cruz Roja**, con el cirujano jefe: Lorenzo García Tornel y en la cirugía proctológica: José María Gallard París y Emilio de los Rios Magriña. En el **Hospital Militar del Generalísimo**, el Teniente Coronel Ángel Díez Cascón. Y existen sanatorios especializados, como el de **Nuestra Sra. de la Merced**, dirigido por Gerardo Manresa Formosa, orientado a la patología pulmonar. Debo mencionar que en todos estos hospitales existen a su vez servicios y secciones de especialidades concretas, que en este momento no hago referencia.

LA REFORMA DEL HOSPITAL CLINICO EN 1979-80

En estas fechas se hace ya muy anacrónica la Organización del Hospital con ausencia de servicios centrales tan básicos como Anatomía Patológica, anestesiología reanimación, etc., de tal forma de que cada cátedra buscaba la colaboración de especialistas por su cuenta. O pongamos por caso en la Facultad de un estabulario donde desarrollar posprogramas experimentales, y trabajos de investigación animal. En la misma Junta Directiva del Hospital Clínico solamente figuraban los representantes de las cátedras clínicas. A propuesta de Pera, Rozman y Rodés se abrió la Junta a la participación de todos los servicios, incluyendo los centrales. Y por primera vez se contrata un profesional de la gerencia hospitalaria, formado en Estados Unidos y con experiencia en el Hospital General de Asturias. De esa forma se incorpora Miguel Ángel Ajenjo, como Director Técnico que ejercerá el cargo durante varios años.

RECAMBIO GENERACIONAL DEL PROFESORADO QUIRÚRGICO EN LA FACULTAD DE MEDICINA Y EN LA AUTÓNOMA

En la Facultad de Medicina el relevo científico en cirugía, en el último tercio del siglo xx lo cogen:

Laureano Fernández-Cruz, catedrático de Cirugía y Jefe de la Unidad de Cirugía hepática y pancreática. Quien inicia una nueva era con formas más directas de enseñanza a su regreso de los Estados Unidos. Valga su primer curso de postgrado como ejemplo, el cual lleva este título «Cuándo hacerlo y cómo hacerlo». Sus publicaciones clínicas versan sobre la patología pancreática y el trasplante. El número de trasplantes de páncreas superan el millar en el Clínico y hay habilitados en España una docena de hospitales para llevarle a cabo.

Juan Carlos García-Valdecasas Salgado (n. 1952), hijo del profesor de Farmacología del mismo apellido, que es Catedrático de Cirugía y Jefe del Servicio de Cirugía General y del Aparato Digestivo.

En el Hospital de San Pablo, jubilados los Jefes de Cirugía: Puig La Calle, Trias Rubiés, y Sobregrau, fallecidos otros cirujanos de esos servicios, algunos en edad temprana, como Jaume, hijo de Pi-Figueras, Jover, Nogueras etc., emergen otros jóvenes profesores incorporados mediante concurso oposición como: Xavier Rius Tornado, catedrático de Cirugía y Manuel Trias Folch (de igual apellido, pero no de la misma rama de los Trias i Rubiés), Jefe del Servicio en el H. de San Pablo.

A partir de este momento se unifican los tres servicios de cirugía, que antiguamente había, bajo una sola dirección. Se establece el escalafón de las plantillas en diversas categorías como Jefes Clínicos, Adjuntos, se cubren las plazas de internos por el sistema nacional conocido por Mir. Y aparecen los nombres de jóvenes cirujanos: J. María Llauradó Oller, Garrigues Viaña, Targorona, etc.

En el Hospital General del Mar, se responsabiliza el profesor Luis Grande Posa, procedente del H. Clínico, quien se doctora en 1976, y desde esa fecha colabora en la Unidad de Cirugía del Trasplante Hepático del Hospital Clínico. Grande, posteriormente se orienta hace la cirugía Oncológica Hepática y Esofágica. Figuran en su servicio como Profesor Titular Manuel Pera, con vocación por la cirugía esofágica y, asociado Miguel Pera más dedicado a la cirugía del colon. Ambos son hijos de Cristóbal Pera.

Incorporado también a la Universidad Autónoma de Bellaterra, está como unidad docente el Hospital de Badalona Germans Trias i

Pujol y su Servicio de Cirugía estuvo dirigido por el joven y brillante catedrático de Cirugía José Antonio Salvá Lacombe (1944-1991), quien falleció muy tempranamente. Era hijo de Salvá Miquel de la RAMB.

Y adquieren su grado docente Joan Sánchez -Lloret i Tortosa en 1989 y Eduardo Jaurrieta i Mas en 1996.

Otros centros y autores que colaboraron en la Enciclopedia de Práctica Quirúrgica de Pi-Figueras fueron: del **Hospital Vall d'Hebron**: J. Boninn Boninn, R Fisas Graupera, L. Ribas López, Senador Gómez, C. Abad Vázquez, R. Bosch Suria, L. Fiz-Rey, J. Grañera, C. López González, F. Morillo Pereña, J. Olsina Pavía y J. Paravisini. De la **Clínica Corachán**: J. Rubio Roig. Del Hospital de Bellvitge: E. Laporte Roselló, A. Sitges Creus, F. Manresa Presas, R. Riu Labrador. Del **Hospital del Mar**: M. Molins Benedetti, R. Nolla Panadés y L. Torre Eleicegui, y finalmente de la **Residencia Sanitaria de Tortosa**: J. M. Manresa Presas.

NUEVA RECREACIÓN DE LA FACULTAD DE MEDICINA AUTÓNOMA CON SEDE EN BELLATERRA Y UNIDADES DOCENTES EN H. DE SAN PABLO. H. VALL D'HEBRON. H. DE BELLVITGE. 1972

Lo que no pudo ser una realidad estable en 1933-34 de contar con una Universidad Autónoma se consiguió cuarenta años más tarde por la nueva legislación universitaria de nuestro sistema educativo, a propuesta del ministro Villar Palasí.

En 1972 se establece la Autónoma con sede en Bellaterra y se determinan diversas Unidades Docentes en Barcelona para los estudios clínicos: en el Hospital de San Pablo, en el H. del Vall D'Hebron, y en el Hospital de Bellvitge. Son nombrados catedráticos por Ley a: Joaquín Barraquer Moner (n. 1927), Oftalmólogo; Joan Oró (1923-2004), Bioquímico, investigador en Houston, que trabajó para la NASA; y Antoni Puigvert Gorro (1905-1990) y J. María Gil-Vernet Vila (n. 1922), urólogos. Dos años más tarde se nombra al pediatra neonatólogo Ángel Ballabriga Aguado (1920 Z.-2008 B.) del Vall de Hebrón.

En 1972 con el advenimiento de la Residencia Sanitaria Príncipes de España en Bellvitge, fue lugar de acogida de una unidad docente de la Facultad de Medicina Autónoma. La Jefatura del De-

partamento Quirúrgico recayó en la personalidad muy cualificada de Antonio Sitges Creus, y en sus servicios entre otros, el de José Antonio Curto Cardús, procediendo ambos inicialmente del Servicio de Soler Roig del H. de San Pablo. Como Jefes de equipo quirúrgico: Manuel Sans Segarra y Xavier Bastida Vilá. Posteriormente, los dos equipos quirúrgicos fueron refundidos en uno como departamento quirúrgico, desempeñando la dirección del mismo Eduardo Jaurrieta, formado en USA, y que conjuntamente con Carlos Margarit, lograrían para este centro la hazaña del trasplante hepático, doce años más tarde.

TRASPLANTE DE ÓRGANOS EN BARCELONA. AÑO DE LA CIRURÍA CATALANA. 1984

Mundialmente se ha recorrido un largo camino en la investigación de los posibles trasplantes de órganos. La senda ha sido pavimentada por miles de inteligencias sumadas al mismo fin: lograr trasplantar un órgano o víscera de un donante a un receptor y sin que se rechace el injerto.

Todos estos trasplantes encontraron luz verde a su realización a partir de 1970, cuando los investigadores suizos consiguen los fármacos inmunosupresores, o drogas antirrechazo, representadas por las ciclosporinas asociadas a glucocorticoides, y la azatioprina. Lo que se llamaba el «tratamiento con las tres drogas». Y en el aspecto puramente hemodinámico la disponibilidad de las bombas de circulación extracorpórea cuando es necesario su uso para poder materializar la extirpación del órgano enfermo y la sustitución por el órgano donado.

Primeros trasplantes de órganos

El año de 1984 fue denominado «el año de la cirugía catalana» por los importantes eventos acaecidos en Barcelona, referidos al tema de los trasplantes de órganos. Pero citemos los antecedentes al respecto:

Trasplante de riñón

El 4 de febrero de 1965, José María Gil-Vernet Vila (n.1922), realiza el primer trasplante de riñón con éxito en España. Uno de

sus trasplantados de 1967 entre gemelos univitelíneos sobrevive cuarenta años después.

Igualmente es pionero en aportar en ciertas técnicas de cirugía vascular preconizando la anastomosis espleno-renal por vía posterior en casos de hipertensión portal, y técnicas urológicas como el injerto de un trozo de colón para sustituir una vejiga extirpada. O la sustitución de la vejiga y uréter tuberculoso en un paciente que solo tenía un riñón, mediante ileon y ciego, realizado en colaboración con Arandes. El mismo autor efectúa el primer trasplante de testículo, del mundo, con donante muerto, el 3 de noviembre de 1978 a un joven, al cual había sido preciso la extirpación de los suyos por lesiones tuberculosas, el injerto funcionó hormonalmente 17 días y siendo retirado meses mas tarde. Son muy sugestivos sus trabajos con circulación extracorpórea lo que le ha permitido extraer el riñón enfermo por cálculos coraliformes masivos, y trabajarle pacientemente en un banco de trabajo, en el mismo quirófano, manteniendo su perfusión a 4 grados, y volverle a injertar mas tarde: ¡Sacar el riñón, repararle y volverle a colocar! Otra aportación la incorporación del microscopio de quirófano para realizar ciertas operaciones de anastomosis vasculares del pedículo renal. Sus aportaciones han sido seguidas por numerosos colegas venidos a los cursos Internacionales de Barcelona.

En el Hospital de Bellvitge los trasplantes de riñón datan de 1978, sobre pasando la cifra de 540 con supervivencias del 95 por ciento; 90 por ciento a los tres años y el 70 por ciento a los cinco, en comunicación efectuada por Fernández Bogues (1991).

Trasplante de médula ósea

En 1976 tuvo lugar el primer trasplante de médula ósea logrado en España realizado en el Hospital de San Pablo, y que a fecha de su comunicación superan los 177 casos, según el informe de Nolla Panades (1992).

Trasplante de páncreas y riñón

En febrero de 1983 Gil-Vernet lleva a cabo asistido por Laureano Fernández Cruz el trasplante de páncreas. El órgano injertado fue situado en pelvis y abocado su conducto de Wirsung a uréter o a vejiga de la orina, y el riego sanguíneo a los vasos iliacos.

Los mismo autores realizan el trasplante de páncreas asociado a riñón. Se trataba de un varón de 34 años afecto de una insuficiencia renal crónica causada por una diabetes juvenil. El paciente sobrevivió 10 años. La intervención se realizó en el Hospital Clínic i Provincial de Barcelona.

Trasplante de hígado

Será en 1984 cuando el nombre del hospital de Bellvitge salte a todos los noticiables médicos. Eduardo Jaurrieta, conjuntamente con Carlos Margarit Creixell y con la colaboración de Marco, Luque y las doctoras Mestre y Suárez, consiguieron llevar a efecto el trasplante hepático, primero en nuestro país.

Dice Margarit (1985) «en agosto de 1984 únicamente en siete hospitales de Estados Unidos y ocho en Europa, habían realizado más de diez trasplantes hepáticos, entre ellos en el Hospital de Bellvitge. En este hospital se ha obtenido un gran éxito habiendo sido siete pacientes dados de alta por curación, y haciendo vida normal».

El mismo Margarit (1985), refiriéndose al Hospital del Vall d'Hebrón, dijo en la Sociedad de Patología de Navarra, que en ese hospital se habían materializado hasta esa fecha, catorce trasplantes de hígado, de los cuales sobrevivían cinco. «En nuestro Hospital se han realizado catorce trasplantes de hígado y en otro centro de Barcelona uno de ellos, de todos estos casos siete han superado la intervención y dados de alta, pero de estos últimos, dos han fallecido casi al año de la operación, por que han desarrollado metástasis pulmonares, ya que eran enfermos que habían sido trasplantados por tener un tumor hepático, aunque el hígado continuase funcionando perfectamente».

Trasplante de corazón

El 7 de mayo de 1984, en el Hospital de San Pablo, en el Servicio de Cardiovascular, Josep Caralps, hijo del que fuera eminente cirujano y pionero de la patología torácica, y Josep Oriol Bonnin con Alejandro Arias del Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, consiguen realizar el primer trasplante cardiaco con éxito de supervivencia. El paciente de nombre Juan Alarcón vivió un año más. El segundo caso operado fue un catedrático canario que sobrevivió 19 años. Caralps

había ingresado en la R.A.M.C. el 12 de Febrero de 1984 versando su discurso «Sobre el proceso de morir y sobre la muerte y su aprovechamiento». El recipiendario fue contestado por su padre, Antoni Caralps i Massó, académico de número.

El trasplante cardiaco se había realizado, cerca de veinte años antes, con resultados letales, en la Paz de Madrid por Martínez Bordiú y los argentinos Liotta (13 de Septiembre de 1968) y tras el éxito admirable de Barnard (1967).

Otros trasplantes: Córnea. 1984

La Ciudad Sanitaria de Bellvitge, hoy Centro Universitario para la licenciatura de medicina desde el tercer curso y, que cuenta con 968 camas, tiene una amplia experiencia en trasplantes en general, en manifestación de Fernández Bagues (1991), desde que se iniciaron los trasplantes de córnea se vienen a realizar 25 al año.

OTROS HOSPITALES ESPAÑOLES QUE SE SUMAN A LA CARRERA DE TRASPLANTES. MADRID. NAVARRA. SANTANDER. VALLADOLID. MALAGA. 1984

El año de 1984 es «el año de los trasplantes en España». Diré más «Año glorioso de la cirugía española», justifica mi afirmación el hecho de que a partir de los pioneros catalanes son diversos los hospitales en que se establece una carrera ese mismo año, semana a semana, mes a mes, sumándose exitosamente a esta moderna técnica quirúrgica para la cual ya estaban preparados, a través de la formación en cirugía experimental y aplicación metodológica en animales.

Y no solo hablaremos elogiosamente de los equipos puramente quirúrgicos, sino de todo el amplio equipo de personal que en ese proceso intervienen en el hecho en sí del trasplante: equipo de enfermería, instrumentistas, bombistas, aparatistas, anestelistas, histopatólogos, intensivistas, banco de sangre, asistente social, etc., y cómo no mencionar a todos aquellos familiares, generosos, altruistas, que permiten la donación de órganos de sus seres queridos. Estos tienen que ser deudores de gratitud infinita.

En septiembre de 1984, cuatro meses después del trasplante de corazón, de San Pablo, se efectúa con éxito el homo-trasplante de Puerta de Hierro dirigido por Diego Figuera Aymerich.

Inmediatamente el de la Clínica Universitaria de Navarra en Pamplona, por el torrelaveguense Jesús Herreros, y que fue dirigido por el jefe del Servicio de Cirugía cardiovascular Ramón Arcas, formado en USA y México, experiencia que plasman en un libro de difusión de la técnica quirúrgica y, antes de acabar el año, el 17 de diciembre, el trasplante cardiaco de la Casa de Salud Valdecilla por Carlos Gómez-Durán Lafleur.

En 1984 se realiza el trasplante de córnea en el Hospital Clínico de la Universidad de Valladolid y ese mismo año la Residencia Carlos Haya de Málaga alcanza su trasplante de riñón número cien.

Por su parte, el 28 de diciembre de 1984, la Clínica Universitaria de Pamplona, en su Servicio de Cirugía Plástica y Reparadora, consigue auto trasplantar tres dedos del pie a la mano de un niño amputado. En definitiva, para la cirugía española, el año de 1984 fue glorioso.

Conjuntamente Puerta de Hierro y la Paz, en enero de 1986, logran con éxito el trasplante hepático en un niño afecto de cirrosis terminal, realizado por Álvarez Cienfuegos y Julián Ardaiz, empleando el tiempo de trece horas y con la colaboración de Servicio de Cirugía Infantil de la Paz: Paloma Jara, Díaz Fernández y la coordinación de Díez Pardo.

A partir del 26 de Abril de 1986, el Hospital del 12 de Octubre de 1986 inicia su programa de trasplantes hepáticos dirigido por Enrique Moreno González, Jefe del Departamento de Cirugía y catedrático de Patología Quirúrgica de la U. Autónoma, previas estancias en 1969 y 1972 en Denver, Colorado (USA). Carrera de trasplantes que no interrumpirá a lo largo de los treinta años siguientes, superando el millar injertos hepáticos realizados. Constituyendo un foco de atracción para innumerables cirujanos españoles a través de sus Cursos de Actualidades.

BARCELONA ESTADÍSTICAS DE TRASPLANTES EN 1990

El hospital de Bellvitge, que ha sobrepasado los cien trasplantes hepáticos con una supervivencia del 42% a los tres años, se le adjudica el trasplante hepático; al hospital del Vall d'Hebrón, que ha iniciado de forma exitosa el trasplante hepático infantil, esta especialidad; al Hospital Clínico de la Facultad de Medicina, se faculta para el trasplante pancreático habiendo sobrepasado el millar con una

supervivencia del 95% al año y el de médula. Y al hospital de la Santa Cruz y de San Pablo, el trasplante cardiaco.

Otra importante hazaña consigue el Hospital de Vall d'Hebrón, el 11 de febrero de 1992, cuando logran el primer trasplante pulmonar completo realizado en España, si bien ellos mismos ya habían efectuado dos uni-pulmonares. Además esta Ciudad Sanitaria tiene actualmente programas especiales de trasplantes de córnea y de riñón, y dispone de técnicas de microcirugía aplicada.

NUEVAMENTE EL HOSPITAL DE SAN PABLO HABILITADO COMO DOCENTE PARA LOS ESTUDIOS DE CLINICAS MEDICAS 1991

El Hospital de la Santa Cruz y San Pablo, pronto centenario, en 1991, después de tantos servicios prestados a la sociedad catalana, y a la docencia médica, continúa lleno de pujanza, preparándose a renovar sus estructuras, tanto físicas como administrativas. Se firma un convenio por parte de la Generalidad de Cataluña, que se incorpora a su administración, la Muy Ilustre Administración (M.I.A: Ayuntamiento, Autonomía, Obispado), comprometiéndose a la construcción de un moderno bloque hospitalario, acorde con los tiempos, dentro del recinto originario del hospital y conservando los pabellones clásicos. Por otra parte, la aceptación del Centro como unidad docente de la Facultad de Medicina de Barcelona, le faculta para impartir clases desde el tercer curso de licenciatura. Nolla Panades, director del Hospital de San Pablo en su memoria anual señala que hasta 1990 se han efectuado 79 trasplantes cardiacos, y destaca el trasplante de fémur, preferentemente indicado en niños con tumores óseos, sin olvidar las primicias de los implantes intraoculares de cristalino artificial e implantes cocleares para sordos (23).

LA CIRUGÍA GENERAL EN 1990 Y LA NUEVA TECNOLOGÍA ENDOSCÓPICA

Cambian los tiempos, cambian las enfermedades, y cambian las formas de curar. Antes de acabar el siglo, se ha alterado la incidencia de ciertas enfermedades. La Ulcera gastroduodenal ya solo requiere la intervención del cirujano en casos complicados de urgencia,

pues ha pasado a ser curada farmacológicamente. El Cáncer de estómago tan común a principio de siglo, ha disminuido considerablemente. En cambio se hace muy presente las litiasis de vesícula y el cáncer colorectal.

Estamos en unos años en que realizándose los trasplantes de órganos de todos tipos y situaciones, parece haberse llegado al sumun de la cirugía. Recuérdese muy en nuestros días, el asombroso trasplante de cara, efectuado a una mujer en Francia que nos ha dejado perplejos, y los casos siguientes cada cual mas difícil, incluyendo macizo óseo facial.

¿Qué nos puede sorprender ya? Pues, una década antes de acabar el siglo xx viene también de Francia la noticia de haber sido extirpada una vesícula biliar y extraída valiéndose de un laparoscópio, por la zona umbilical.

Bibliografía: Por exceso de paginación pídase al autor: F. Vázquez de Quevedo. C/ Paseo de Pereda 20. Santander 39004. Teléfono: 942 22 17 15 - 690 39 81 17.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Muchas gracias. Quiero recordar a los Sres. Académicos que tenemos a continuación Junta de Gobierno. Permítanme unas palabras de agradecimiento a los dos conferenciantes del día de hoy, el Prof. Domínguez Carmona por la magnífica exposición que nos ha hecho sobre un tema tan complejo, tan difícil donde tanto tenemos que aprender, sobre esos pacientes que van, como yo suelo decir en busca de su centro de gravedad. Una magnífica exposición, muy actualizada, por lo tanto nuestra enhorabuena. Es una lástima que no hayamos podido debatir sobre tan interesante conferencia, porque estoy convencido que hubiera sido motivo por parte de muchos Académicos de intervenir, aportar ideas y hacer comentarios.

Al Prof. Vázquez de Quevedo, como siempre, muchísimas gracias. Creo en la oportunidad de esta conferencia, justo en este año en que se celebra el 250 aniversario de la fundación del Real Colegio de Cirugía de Cataluña. Conferencia y circunstancia excepcional. Quisiera además dar las gracias por su presencia al D. Ramón Trías Rubies, Secretario General de la Real Academia de Medicina de Cataluña, que nos acompaña en el día de hoy, rogándole que trans-

mita a todos los compañeros de la Real Academia de Cataluña el saludo más efusivo y cordial de esta Real Academia.

Sin más se levanta la Sesión e invito a los Sres. Académicos a asistir a la Junta de Gobierno. Muchas gracias.

VIII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 9 DE MARZO DE 2010

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

LA NEUROTRANSMISIÓN DESDE LA OTRA ORILLA
THE NEUROTRANSMISION FROM THE OTHER SIDE

Por el Excmo. Sr. D. PEDRO SÁNCHEZ GARCÍA

Académico de Número

TERAPIA CELULAR CON CONDROCITOS.
EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR
EN CULTIVOS

CELL THERAPY WITH CHONDROCYTES.
EVALUATION OF CELL VIABILITY IN CULTURES

Por el Excmo. Sr. D. ANTONIO CAMPOS MUÑOZ

Académico de Número

LA NEUROTRANSMISIÓN DESDE LA OTRA ORILLA

THE NEUROTRANSMISION FROM THE OTHER SIDE

Por el Excmo. Sr. D. PEDRO SÁNCHEZ GARCÍA

Académico de Número

Resumen

El descubrimiento de los mecanismos implicados en la comunicación interneuronal representa, junto con el conocimiento del genoma o la creación de la bomba atómica uno de los logros científicos más espectaculares del siglo veinte.

En este trabajo se describe el apasionado camino que los científicos transitaron en la primera mitad del siglo veinte, entre guerras, y su lucha para lograr la universal aceptación del carácter químico de la neurotransmisión. Científicos británicos, Sir Henry Dale a la cabeza, alemanes muchos, William Felberg como prototipo y el papel fundamental que jugó el elegante y sencillo experimento del austriaco Otto Loewi, junto con las aportaciones americanas de Walter B. Cannon y su grupo, contribuyeron a tan magna empresa.

Yo titulo este trabajo *La neurotransmisión desde la otra orilla*. ¿Por qué? Es bien simple; porque en Londres se sustanció gran parte de la obra que llevó a obtener el Premio Nobel a Dale y Loewi pero no a Cannon por adoptar una muy heterodoxa teoría.

Tanto Loewi como Felberg, y tantos otros, eran judíos y tuvieron que abandonar Alemania por la persecución nazi. Otto Kroyer, ejemplo paradigmático de moralidad, aun no siendo judío, tuvo que salir de Alemania por no aceptar un puesto universitario, ofrecido por el régimen nazi, del que había sido destituido un profesor por el hecho de ser judío. Estos hombres llegaron a la otra orilla y Sir Henry Dale los acogió, científica y humanamente, con la ayuda de la Fundación Rockefeller. La odisea vivida estos años se describe en este trabajo.

Abstract

The discovery of how neurons communicate, like the cracking of genetic code and the creation of the atomic bomb is one of the fundamental scientific development of the twentieth century.

In this paper we described the history of scientific discovery of neurohumoral transmission against the backdrop of the two world and the fascinating lives of several scientists whose work was affected by the social and political events in their time. The lives and history of the main protagonists Sir Henry Dale, Otto Loewi and Walter Cannon are reported here. Otto Lewi and William Felberg —as jews— were arrested by nazi troops and Otto Krayner —not a jew— for not accepting one university offer of nazi party. All of them, and many others, were compelled to migrate from Germany to Great Britain, where Sir Henry Dale helped them to continue their work and their lives. All this scientist played an important role in the work on chemical neurotransmission which finally cristalized in awarding the Nobel. Price —in 1936— to Otto Loewi and Sir Henry Dale, but not to Walter Cannon, in this case, for adopting a controversial theory. The role of Rockefeller Foundation in this history is also contemplated.

El guiño de los ojos, la más leve sonrisa o los cambios de tensión arterial, que ocurren en condiciones fisiológicas o en situaciones de estrés, implican la puesta en marcha de una conversación química entre neuronas y células efectoras. El lenguaje adoptado para esta comunicación lo constituyen sustancias químicas: los neurotransmisores. Durante el desarrollo embrionario ambas, neuronas y células efectoras han tenido que desarrollar una estructura singular, la sinapsis, para la transferencia y reconocimiento de estas señales químicas. La precisión con que trabaja este sistema de comunicación y su control, mediante señales eléctricas, mensajeros y diversos iones, imprescindibles para la transferencia, reconocimiento y traducción de los mensajes químicos resulta apasionante.

Sobre la base de los estudios de Cajal acerca de la independencia neuronal y la sugerencia de Elliot, un joven estudiante británico, sobre la liberación de adrenalina con cada impulso nervioso, comenzó, a principios del siglo xx, una feroz controversia científica con respecto al carácter químico o eléctrico de la transmisión del impulso nervioso. Es cierto que el camino andado ya va siendo largo, muy largo, pero no es menos cierto que aun le quedan muchas leguas y pasos. Tres grandes hombres: Otto Loewi, judío austriaco, Sir Henry Dale, británico y Walter B. Cannon, norteamericano, con sus colaboradores fueron figuras estelares en esta odisea. ¿Como se reunieron tantos brillantes científicos en lugar y momento precisos? y ¿como las circunstancias del momento, desde la raza a la geografía, influyeron en esta singular aventura? Lo veremos ahora. Con esta pregunta hemos llegado al fondo de la cuestión. «...desde la otra orilla...»

EL REGIMEN NAZI

Durante los años 30 se impuso en Alemania el régimen nazi y como es bien conocido se desplegó una bien y cruelmente organizada persecución de los judíos en el continente. Por encima de todo lo ario. ¿Quién no recuerda la famosa trilogía emigración, muerte o campos de concentración?

En este trabajo voy a recordar la peripecia que vivieron tres hombres geniales llegados al Reino Unido, desde la otra orilla del mar del Norte, en difíciles circunstancias. Sin ellos quizá las cosas no hubieran sido como fueron. Me refiero a William Feldberg, judío alemán, Otto Loewi, judío austriaco y Otto Kraye, ario puro no judío. En principio, podría parecer que solo ellos se vieron obligados a emigrar al Reino Unido y que solo ellos hicieron aportaciones críticas al área de la neurotransmisión. No; no es cierto; solo ejemplificador. El trabajo sería excesivamente largo y no es este el momento para ello. Es cierto que se necesitó el aporte de muchos, todos lo sabemos. Me gusta recordar, al respecto que el cura de mi pueblo, cuando yo era niño, solía decir *«para ser listos hay que ser muchos»*. Lo comparto plenamente.

Durante el primer año de los nazis en el poder 2600 científicos abandonaron Alemania. Entre quienes trabajaban en el área de neurotransmisión entre 1933-1937 se vieron obligados a emigrar, además de los tres ya citados, Hermann Blaschko, Edith Bulbring, Bernard Katz, David Nachmanson y Marta Vogt entre otros. Alguien ha dicho que sin la presencia de estos investigadores, *venidos de la otra orilla*, la demostración de la naturaleza química de la transmisión sináptica hubiera transitado otros caminos.

WILLIAM FELDBERG 1933

«Un día en 1933 apenas llegado Hitler al poder, el Director del Instituto de Berlín, donde yo trabajaba, se acercó a mi y me informó que había sido fulminantemente destituido y debía abandonar el Instituto a más tardar a la media noche. Además no se me permitiría entrar nunca más. Quise terminar el experimento en curso en aquel momento y se me permitió. Unos días más tardes alguien me informó que un miembro de la Fundación Rockefeller estaba en Berlín y que yo debería verle. Así lo hice, y me pareció muy simpático a pesar de que me contestó algo así; usted debe saber Dr. Feldberg que han sido

destituidos muchos científicos seniors eminentes y que nosotros debemos ayudarlos; no sería razonable despertar esperanzas para solucionar el problema a una persona tan joven como usted». Después añadió «al menos dígame usted su nombre; nunca se sabe». Cuando lo escucho dudó un poco y contestó «me suena, déjeme ver». De repente, después de repasar las páginas de su diario, dijo emonocionado, «aquí esta, tengo un mensaje par usted de Sir Henry Dale, a quien conocí en Londres hace unas cuantas noches. Sir Henry me encargo; si por casualidad encuentra usted a William Feldberg en Berlín dígame que le ofrezco un puesto de trabajo en mi laboratorio en Londres». Figura 1. «Otro caso resuelto comento entusiasmado; al menos ya conozco una persona por la que no necesito preocuparme más».



FIGURA 1. William Feldberg y Sir Henry Dale en Londres. 1933.

Feldberg había conocido a Sir Henry en 1927 en su Laboratorio de Londres y en diversas reuniones científicas, en las que presentó trabajos sobre la liberación de sustancias del tipo acetilcolínico, mediante la estimulación de los nervios colinérgicos y al mismo tiempo demostro lo fácil que era detectar la acetilcolina usando como herramienta farmacológica la *eserina* y como técnica experimental el *músculo dorsal de sanguijuela eserinizado que llegó a ser lo que yo*

llamo reacción nera-farmacológica en recuerdo a la famosa reacción nera de D. Santiago Ramón y Cajal. Como bien se ha dicho, esta técnica constituyó la llave que abrió muchas puertas en el estudio de la neurotransmisión.

Feldberg llegó al Reino Unido el 7 de julio de 1933 por el puerto de Harwich y comenzó a trabajar en el laboratorio de Sir Henry Dale inmediatamente, permaneciendo allí casi tres años hasta que se fue a Australia. Las primeras semanas en Londres fueron terribles viviendo con la incertidumbre de si su familia, todavía en Alemania, podría venir a Inglaterra. La familia llegó también por el puerto de Harwich donde él la esperaba paseando, nervioso, por el puerto. Cuando apareció su mujer un oficial británico se acercó a ella y la dijo «*Mrs Feldberg you must never leave your husband alone*». La situación económica fue difícil pero Sir Henry consiguió ayuda. «*En todo caso, la señora Feldberg comenta: nuestra vida fue muy modesta*».

Los años en Londres fueron muy felices y productivos. Entre 1933 y 1936 se publicaron en el *Journal of Physiology* 14 trabajos sobre el papel de la acetilcolina en la transmisión neuromuscular y ganglionar y otros 10 sobre neurotransmisión en otros tejidos: médula suprarrenal, pared del estómago, glándulas sudoríparas y sistema nervioso central. Curiosamente el nombre de Feldberg apareció en todos ellos. ¿Cuál fue la razón? «*Probablemente, dice, se debió a que traje conmigo la llave que abriría las puertas. Yo abrí la primera y así una tras otra; nunca me negué a ello. ¿Pero cual fue la llave? Señores, fue el método usado para detectar acetilcolina en el efluente venoso, en respuesta a la estimulación nerviosa, lo que ya hemos llamado la reacción nera-farmacológica y el músculo dorsal de sanguijuela eserinizado*».

Frente a este monumental trabajo se erguía la figura de Sir John Eccles, defensor de la teoría eléctrica de la comunicación neuronal. Durante los años críticos, Dale y Eccles ignoraron cada uno las publicaciones del otro grupo en los mismos números del *Journal of Physiology*. Al fin Eccles, abrumado por la evidencia, en los años 40 aceptó la teoría química de la comunicación neuronal en una memorable sesión de «*...conversión al Dalinismo químico desde su postura Electroecclesiana...*». La historia es bastante más compleja pero por hoy basta.

Durante su estancia en Londres la señora Feldberg acompañaba todos los días a su marido al laboratorio temerosos de que algo le pudiera ocurrir por su condición de judío. En uno de sus matutinos

paseos la Sra. Dale sorprendió a la pareja mirando con atención una pescadería. Les preguntó la razón y la Sra. Feldberg contestó «...a mi marido le encanta la langosta, pero...». Al día siguiente Sir Henry llegó al laboratorio después de haber escuchado a su esposa. Discutió con Feldberg y sus colaboradores un crucial experimento y dijo, «...desde hoy los experimentos como este los celebraremos siempre en mi casa y serán conocidos como **«lobster-experiments»**».

Cuando Feldberg marchó a Australia, Dale dejó de trabajar en el Laboratorio. Algo parecido había ocurrido antes de 1933. En una ocasión Lady Dale dijo a Katherine, esposa de Feldberg, lo feliz que se sentía porque cuando ellos vinieron al Reino Unido su marido se mostró de nuevo entusiasmado con la investigación.

Al regresar finalmente a Inglaterra, Feldberg se ocupó del sistema nervioso central, pero desgraciadamente su vida se vio enturbiada, poco antes de su muerte, por una campaña poco ética, con engaños, orquestada por los antiviviseccionistas.

EL PREMIO NÓBEL

El año 1936 comparten el premio Nóbel Otto Loewi y Sir Henry Dale. «Eureka». Figura 2. Dale recibió múltiples apoyos de todo el mundo ante la comisión Nóbel. Por el contrario, Otto Loewi, de su país natal Austria, solo recibió un par de ellos de viejos amigos. El más impresionante y decisivo de apoyo a Otto Loewi lo recibió la comisión Nóbel de Sir Henry Dale. Como diría Unamuno Dale siempre fue «*todo un hombre*». En alguna ocasión se ha llegado a sugerir que Dale no hubiera compartido el Nóbel con Loewi sin las contribuciones de Feldberg. El, sin embargo, siempre minimizó su papel diciendo que ciertamente había traído *la llave* para abrir algunas puertas pero que Sir Henry Dale era quien sabía que puertas debían ser abiertas.

OTTO LOEWI

La prueba definitiva de la transmisión neurohumoral fue aportada por Otto Loewi en la primavera de 1921 con su original y clásico experimento, primero soñado y luego una tangible realidad. Loewi inició su carrera científica en Marbourg pero sus años cru-



FIGURA 2. Prof. Otto Loewi y Sir Henry Dale en Estocolmo en 1936 con ocasión de la concesión del premio Nóbel.

ciales los vivió en la Universidad de Graz (Austria), como profesor de Farmacología. Desde allí, desde la otra orilla, iluminó al universo mundo científico. Dudas tenerlas las tuvo, pero el temporal siempre escampo.

Cuando Otto Loewi y Sir Henry Dale recibieron conjuntamente el premio Nóbel de Medicina y Fisiología y debido al terremoto político nazi que assolaba a Europa en aquellos años, Otto Loewi depositó su parte del premio Nóbel en un banco sueco. El año siguiente tuvo lugar la anexión de Austria a la Alemania nazi. Unos días más tarde, sobre la media noche, un agresivo grupo de las SS llamó a la puerta e invadió su casa. Otto Loewi y dos de sus hijos fueron encarcelados hasta que el importe del premio Nóbel fue depositado en la arcas del partido nazi. Solo entonces se permitió a la familia viajar a Inglaterra. Años más tarde, con gran sentido del humor, refiriéndose al incidente, Otto Loewi comentó *«toda mi vida tratando, sin conseguirlo, de perder peso y ahora con la ayuda de los nazis pude bajar casi cien libras en solo tres meses»*.



FIGURA 3. De izquierda a derecha, William Feldberg, Walter B. Cannon y Otto Loewi en ocasión del XIV Congreso Internacional de Fisiología celebrado en Leningrado, 1935. Sir Henry Dale no asistió por razones personales ético-políticas.

Poco después de su llegada al Reino Unido, Otto Loewi recibió una oferta como profesor de investigación en la Universidad de Nueva York. Inmediatamente fue al consulado norteamericano en Londres y relleno un amplísimo documento para solicitar la Visa. Cuando volvió la siguiente semana para recogerla, el Sr. Cónsul con gran simpatía le dijo «*lo siento Profesor*», y le devolvió el documento que el había presentado. Tenía un sello que decía **rechazado**, con una nota adicional que rezaba «**persona vieja incapaz de ganar su propio sustento**». La respuesta le sorprendió profundamente, pero Loewi tuvo una feliz idea. «Señor cónsul, ¿si yo le muestro a usted datos adicionales podría cambiar su decisión? Puede ser, pero es poco probable. Entonces yo tome un libro que estaba exactamente en la biblioteca que habia detrás de su escritorio y busqué mi nombre, era el *Who is Who*. **El cónsul leyó la lista de mis medallas, doctorados honoris causa, y el Premio Nóbel**. Se sintió impresionado y me dijo excusándose. Efectivamente usted merece la Visa». Borró la palabra rechazada, **escribió aprobada** y la firmó. «Yo le agradecí su amabilidad, guardé la Visa en mi bolsillo, coloqué mi mano en el pomo, abrí la puerta, mire alrededor y comente, Sr. Cónsul, ¿quería usted saber quien escribió el artículo en *Who is Who*?, ¿porqué?» respondió, «porque lo escribí yo.

Hasta su muerte vivió en los Estados Unidos, querido y admirado por todos. Sir John Gaddum, con ocasión de su necrológica dijo de Otto Loewi «*Everyone who meet him loved him as a man and respected him as a great man*».

Voy a referir finalmente un comentario de mi maestro el prof. Robert F. Furchgott, Premio Nóbel de Medicina y Fisiología 1998 . El Dr. Furchgott escribió «*Otto Loewi, ya jubilado, vino a la Facultad de Medicina de la Washington University donde yo trabajaba. Después de su conferencia visitó individualmente a cada uno de los miembros del Departamento. Cuando me llegó el turno, trate de explicarle cuidadosamente la teoría de los receptores que yo había desarrollado. Comencé a derivar algunas ecuaciones al respecto. Me escuchó y muy educadamente me dijo: su trabajo es muy complicado para mí, le deseo suerte. Ahora, cuando yo recibo invitaciones escucho a las nuevas generaciones de biólogos moleculares y recuerdo mi reunión con Otto Loewi en 1954. La historia es aleccionadora y se repite*».

LA ÉTICA DE OTTO KRAYER

El Profesor. Otto Krayer, farmacólogo alemán, ario, emigró también a Inglaterra a causa del régimen nazi. Krayer, un joven y brillante científico, trabajaba en el departamento de Farmacología de la Universidad de Berlín. Había colaborado con William Feldberg y juntos demostraron que la estimulación del nervio vago secreta acetilcolina en el corazón. El método utilizado para el estudio incluía. ya por entonces, la preparación de músculo dorsal de sanguijuela eserinizado y la inyección de eserina en el animal Figura 4. Método este que tantos frutos dio para el descubrimiento del carácter químico de la transmisión neurohumoral, como inicialmente la llamo Otto Loewi.

Registro derecho: músculo dorsal de sanguijuela.

I Control, II Respuesta durante el estímulo vagal, III Control después de administrar eserina, IV Respuesta a la estimulación vagal después de eserina.

Registro de la izquierda: presión arterial de gato.

I Control en animal eserinizado, II Estimulo vagal durante la eserinización, III Estímulo vagal durante la eserinización en presencia de atropina.

El día 15 de junio de 1933, Otto Krayer escribió la carta más importante de su carrera. Con 33 años al científico clínico berlinés

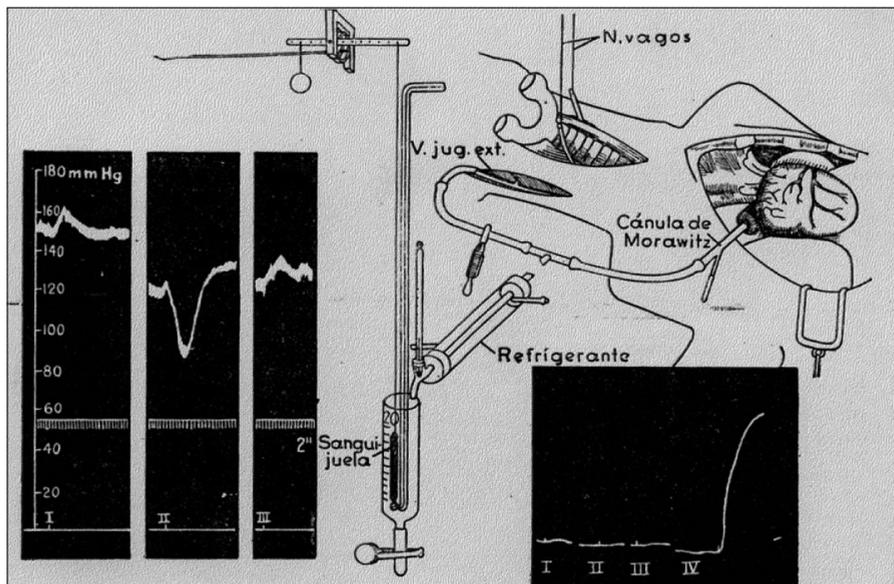


FIGURA 4. Demostración de la liberación de acetilcolina por el estímulo vagal en el corazón de mamífero (W. Feldberg y O. Kraye, 1933).

le había sido ofrecida la cátedra de Farmacología y Toxicología en Dusseldorf para reemplazar al profesor Philipp Ellinger que había sido fulminantemente destituido por ser de raza judía. Todo el mundo esperaba que Otto Kraye aceptaría el ofrecimiento. Sus principios éticos, sin embargo, no le permitieron hacerlo. Rechazó el puesto y escribió una carta memorable al todo-poderoso Ministro Prusiano de Ciencia, Arte, y Educación Nacional porque consideraba equivocada aquella destitución. A continuación aparece reproducida la carta:

«...the primary reason for my reluctance is that I fell the exclusion of Jewish scientists to be an injustice, the necessity of which I cannot understand, since it has been justified by reasons that lie outside the domain of science. This feeling of injustice is an ethical phenomenon. It is innate to the structure of my personality, and not something imposed from the outside. Under these circumstances, assuming the position would make it difficult to take up my duties as teacher with joy and a sense of dedication, without which I cannot teach properly... The work to which I have heretofore dedicated all my strength, means so much to me that I could not compromise it with the least bit of dishonesty. I therefore prefer to forego this appoint-

ment, rather than having to betray my convictions; or that by remaining silent I would encourage an opinion about me that does not correspond with the facts».

Otto Kraymer podría haber rechazado el puesto ofreciendo alguna excusa política neutra. Por el contrario afrontó la situación sin ambages, sabiendo que el precio de su rechazo sería muy alto. El contenido de su carta no contenía ambigüedades ni ofrecía compromiso. Las reglas de promoción académica en Alemania exigían que una cátedra ofrecida a un no judío debía ser, por principio, aceptada. No se haría una segunda oferta. La respuesta del poderoso ministro prusiano fue escueta y cruel: *«I herewith forbid you effective immediately for entering any government academic institution and from using any State libraries or scientific facilities»*. Algún tiempo más tarde recibió una oferta de la Fundación Rockefeller para trabajar durante un año en el «University College of London». Al terminar el periodo de su estancia en Londres no quiso volver a Alemania y aceptó un contrato para trabajar en la Universidad Americana de Beirut. Finalmente le fue ofrecida la jefatura del Departamento de Farmacología de la Universidad de Harvard (1936) con el apoyo de Sir Henry Dale y Walter B. Cannon. Desde allí siguió enseñando, investigando y luchando contra las crueles atrocidades nazis. Yo tuve la oportunidad de conocerle en su «*santa-santorum*» de La Facultad de Medicina de Harvard donde montaba, como nadie, con unción. la «*Técnica del corazón pulmón de Starling*» que tanto éxito le aportó a lo largo de su labor investigadora.

El año 1939, terminada nuestra guerra civil, Kraymer prestó incondicional apoyo al Dr. Rafael Méndez, farmacólogo español que había servido a la República. Las Universidades y las Compañías Farmacéuticas norteamericanas consideraban al Dr. Méndez un paria político. Kraymer que lo conocía desde hacía pocos años le nombro asistente de investigación en la Facultad de Medicina de la Universidad de Harvard. *«Méndez acostumbraba a decir que Kraymer le cuidó como un amante padre»*. Don Rafael recaló finalmente en México, donde adquirió prestigio universal por sus trabajos en farmacología cardiovascular.

El prof. Kraymer se jubiló en el Departamento de Farmacología de Harvard, pero continuó ejerciendo su influencia científica y humana en universidades americanas y europeas con los estándares científicos y éticos que siempre le caracterizaron. Falleció en 1982.

Ulrich Trendelenbourg, ilustre farmacólogo, hijo del mentor de Kraye en Berlín, escribió «*He set something that is very rare nowadays: and example*».

A MODO DE EPÍLOGO

Se ha dicho y no sin razón, que «*Si bien política y economía en principio condicionan la ciencia, en última instancia es la ciencia quien condiciona ambas, política y economía*». El ejemplo de hoy es aleccionador. La ética y la ciencia de la otra orilla iluminaron el mundo. Hace pocos días escribía un amigo mío «*La vida política solo será limpia si a la vez cultiva las fuentes de las que toman sabia sus raíces, la cultura, la ética, la religión, el arte y la utopía*». Lo suscribo plenamente. Así sea.

BIBLIOGRAFÍA

- ANDERSON, R. *The singular moral compass of Otto Kraye*. Aspet Centennial Compendium. 1908-2008.
- BACQ, Z. M. *Chemical transmission of nerve impulses*. Pergamon Press. 1975.
- FERLBERG, W. *The history of synaptic and neuromuscular transmission by acetylcholine. Reminiscences of an eye witness*. En «The pursuit of nature», pp. 65-83, Cambridge University Press, 1967.
- GONZÁLEZ DE CARDEDAL, O. «Horacio y la nave del estado», *ABC*, p. 3, 9-11-2008.
- KOELLE, G. B. «Reflections of the pioners of neurohumoral transmission», *Perspectives in Biology and Medicine* 28, 3:1985.
- LOEWI, O. «An autobiographical sketch», *Perspectives in Biology and Medicine*, 23, 4:1960.
- VALENSTEIN, E. S. *The war of the soups and the sparks*. Columbia University Press, 2005.

**TERAPIA CELULAR CON CONDROCITOS.
EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD CELULAR
EN CULTIVOS**

***CELL THERAPY WITH CHONDROCYTES.
EVALUATION OF CELL VIABILITY IN CULTURES***

Por el Excmo. Sr. D. ANTONIO CAMPOS MUÑOZ

Académico de Número¹

Resumen

La implantación de condrocitos autólogos constituye un tratamiento de elección para los defectos condrales. No existe sin embargo suficiente evidencia de que la terapia de base celular con condrocitos sea más eficaz que otras estrategias existentes para el tratamiento de las lesiones del cartílago articular. En el presente trabajo con el objeto de identificar el subcultivo más viable para su utilización en ingeniería tisular se evalúa la viabilidad de condrocitos animales y humanos en varios pases sucesivos comparando los resultados que se obtienen con azul tripan, con microscopia electrónica analítica por energía dispersiva de Rayos X y con micromatriz multigénica o microarray. Los resultados con azul tripan muestran una alta viabilidad en todos los subcultivos mientras que la determinación del índice K/Na que se obtiene utilizando la microscopia electrónica analítica pone de relieve alta viabilidad solo en algunos subcultivos. La explicación es que el azul tripan solo tiñe células muertas en las que ya existe ruptura de la membrana celular, mientras que la microscopia electrónica analítica permite detectar células en proceso de muerte con anterioridad a que se produzca la ruptura de la membrana celular. La expresión de los genes de caspasa y de diferenciación condral confirma la heterogeneidad para los diferentes pases y por tanto la posible influencia de la viabilidad celular en la efectividad de la implantación de los condrocitos autólogos.

¹ Con la colaboración del Prof. Miguel Alaminos Mingorance, Académico correspondiente y el Dr. Álvaro Morales Villaescusa, Facultativo del Servicio de Traumatología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

Abstract

Autologous chondrocyte implantation is an established method for the treatment of chondral defects. However there is insufficient evidence to say whether cell-based therapy is superior to other treatment strategies in articular cartilage lesions. In this work we have determined cell viability of animal and human chondrocytes in several passages to identify the specific cell passage that is more appropriate to be used in tissue engineering. We compare the results using tripan blue, X-Ray electron probe microanalysis and microarrays. When tripan blue is used a high viability—more than 80 %—was observed in all passages. When it was used X-Ray microanalysis the K/Na index only showed high viability in some subcultures. Whereas only cell death with ruptured cell membrane are stained with tripan blue, X-ray microanalysis determination detects cell death before the rupture of the membrane. The gene expression for caspase and chondral differentiation confirm the heterogeneity in cell viability for different cell passages and therefore the possible influence of cell viability in the effectiveness of autologous chondrocyte implantation.

INTRODUCCIÓN

De las trescientas sesenta articulaciones existentes en el cuerpo humano un número importante son diartrosis, esto es articulaciones que tienen un alto grado de movilidad. El tejido cartilaginoso, que es un componente estructural básico de dichas articulaciones, es el asiento de una patología frecuente e invalidante que es referida como la más frecuente por la población mayor de sesenta y cinco años en las encuestas nacionales de salud. A ello hay que añadir la frecuencia de las alteraciones del cartílago articular en jóvenes y deportistas (11).

La patología del cartílago es una patología variada que comprende entre otras la patología degenerativa, los traumatismos o, por ejemplo, la osteocondritis disecante. El tratamiento puede ser de carácter sintomático, quirúrgico con perforación múltiple, abrasión superficial o profunda, trasplante osteocondral o mediante la inducción celular de la condrogénesis por trasplante de periostio o pericóndrio o más recientemente mediante la terapia celular por trasplante autólogo de condrocitos, técnica incorporada por Brittberg en 1994 (3) (8).

Aunque el desarrollo de la terapia celular por condrocitos se ha extendido en la práctica quirúrgica existen al parecer dudas sobre la eficacia de la técnica dado el alto grado de variabilidad que ofrecen

los resultados. Una revisión sistemática realizada recientemente para determinar la efectividad de la terapia celular en el cartílago articular de la rodilla concluye que no existe una evidencia suficiente para asegurar que dicha terapia es superior a otras estrategias terapéuticas. Resulta evidente que existen algunas limitaciones con los condrocitos que se utilizan en este tipo de terapia celular que se derivan por un lado de su alto grado de diferenciación y por otro su baja capacidad proliferativa (10) (16).

El objetivo de este trabajo es comunicar a la Academia los estudios preliminares que ha realizado nuestro grupo de investigación para evaluar el grado de viabilidad de los condrocitos en relación con los distintos subcultivos que se utilizan en la terapia celular. Estudios previos realizados en nuestro laboratorio han puesto de relieve la variabilidad existente en distintas estirpes celulares en la viabilidad celular según el pase o subcultivo del que se trate (1) (2) (12) y como la diferente viabilidad de las células utilizadas puede condicionar la eficacia terapéutica. En la investigación se utilizan técnicas de evaluación de la viabilidad de microscopía electrónica cuantitativa desarrolladas asimismo por el grupo de investigación (4) (5) (6).

EVALUACIÓN DE LA VIABILIDAD DE LOS CONDROCITOS AUTÓLOGOS

La determinación de la viabilidad se ha realizado en condrocitos procedentes de un modelo animal —rata Wistar— y en condrocitos procedentes de biopsias de cartílago articular humano extirpadas de acuerdo con los criterios establecidos en la normativa existente al respecto. Dichas biopsias se llevaron a cabo en el transcurso de intervenciones quirúrgicas consistentes en el reemplazo articular completo de la rodilla (artroplastia total de rodilla). Las biopsias de cartílago articular que fueron conservadas en medio de transporte tisular a 4° C, donde se mantuvieron hasta el momento de su procesamiento. Este medio de transporte consistió en un medio básico DMEM (medio de Eagle modificado por Dulbecco, Sigma-Aldrich ref. D5796, St. Louis, Missouri, EEUU) suplementados con antibióticos y antimetabólicos (500 U/ml de anfotericina B, Sigma-Aldrich ref. A5955) pero sin suero bovino fetal.

Con el objetivo de conseguir disgregar la matriz extracelular del cartílago y conseguir la separación de los condrocitos de dicha matriz, las muestras se incubaron en una disolución de colagenasa I y

II de *Clostridium histolyticum* (Gibco BRL Life Technologies Ref. 17100-017, Karlsruhe, Alemania) al 2% a 37° C durante 12 horas. Esta solución es capaz de digerir el colágeno y la matriz y liberar los condrocitos existentes en el cartílago.

Las muestras digeridas en colagenasa se centrifugaron a 1000 revoluciones por minuto durante 10 minutos, con el fin de obtener las células disgregadas de la matriz extracelular, recogiendo el precipitado pellet celular correspondiente. Posteriormente, este precipitado celular se cultivó en frascos de cultivo de 25 cm² de superficie tipo Falcon® con medio de cultivo QN. El medio QN fue inicialmente descrito para el cultivo de queratinocitos de la piel, habiendo demostrado su utilidad en el cultivo de diversos tipos de células humanas y animales (1) (2). Cuando los condrocitos articulares humanos, en su disposición de monocapa alcanzaron la semi-confluencia, las células se lavaron con 5 ml de PBS (tampón fosfato, Sigma-Aldrich ref. P4417) para eliminar cualquier resto del medio de cultivo y las células muertas. A continuación, se cubrió toda la superficie de cultivo con aproximadamente 2 ml de solución de disociación celular (Sigma-Aldrich ref. C5789) para disgregar los mecanismos de adhesión celular y obtener células individualizadas y no adheridas a la superficie del frasco de cultivo, incubándose 5-10 minutos a 37° C. Fig. 1.

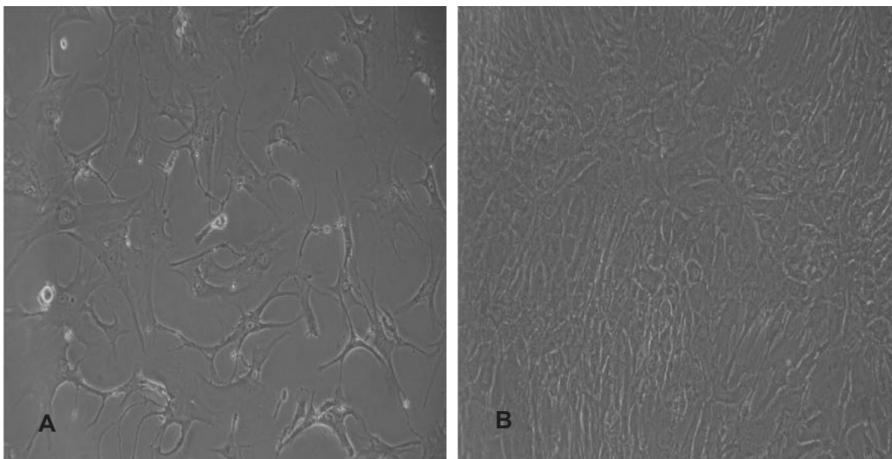


FIGURA 1. Imagen de microscopía correspondiente a células subconfluentes (A) y confluentes (B) del tejido cartilagenoso.

Pasado este tiempo, y una vez quedó comprobada la separación de las células del frasco, se añadieron 5 ml de medio QN para inactivar el efecto de la solución de disociación, recogiendo ambos en un tubo cónico que se centrifugó a 1000 rpm durante 10 minutos. El precipitado o *pellet* celular que se obtuvo se resuspendió en medio de cultivo QN y se sembró en nuevos frascos de cultivo con medio QN. Este procedimiento se llevó a cabo varias veces, obteniéndose así un total de hasta seis subcultivos celulares.

Para evaluar la viabilidad se han utilizado tres métodos: la determinación de la viabilidad celular mediante ensayos de exclusión de colorantes vitales, la determinación de la composición iónica mediante microscopía microanalítica por energía dispersiva de Rayos X y el análisis de la expresión génica mediante microarrays

El método elegido para la determinación de la viabilidad celular mediante ensayos de exclusión de colorantes vitales, fue el de tinción con azul tripan y conteo celular en cámara de Neubauer. La tinción con azul tripan utiliza un colorante soluble en agua, altamente tóxico, que posee grupos cargados amino y sulfato. La utilidad de este colorante en biología es muy importante, habiéndose utilizado este método para determinar la viabilidad de distintos tipos de células (1). En general, el azul tripan es capaz de teñir de color azul solamente las células muertas o aquellas en las que la membrana celular ha sido fragmentada. Sin embargo, las células vivas son capaces de excluir activamente este colorante y, por tanto, mantienen su color original translúcido o blanco.

Para determinar la concentración iónica intracelular de los condrocitos las células mantenidas en frascos de cultivo con medio de QN se subcultivaron sobre rejillas de oro de 3 mm de diámetro especiales para microscopía electrónica (Fedelco ref. G100-G3) recubiertas con Pioloformo (SPI-CHEM ref. 2466) y se depositaron sobre cubreobjetos de vidrio de 11 mm de diámetro (Fedelco ref. 06-K-F 0513), esterilizándose mediante irradiación ultravioleta durante 12 h. Una vez subcultivadas las células sobre las rejillas cubiertas con Pioloformo, los condrocitos se incubaron durante 24-48 h en medio de cultivo QN para permitir la adhesión de las células a esta superficie. Con el fin de eliminar la contribución del medio extracelular al espectro de rayos X en los análisis de los condrocitos, se procedió al lavado de las rejillas conteniendo las células de acuerdo con los criterios establecidos previamente por diferentes autores (5) (6).

Las células, que son criofijadas en nitrógeno líquido y deposita-

das en el interior de un portamuestras, se transfieren de forma inmediata a un sistema de criodesecación de alto vacío Emitech K775 (Emitech, Watford, Reino Unido) con el objetivo de extraer el agua de las células por sublimación. Tras la criodesecación, las células se recubrieron con una superficie conductora de electricidad para facilitar el barrido del haz de electrones durante su observación microscópica y detección analítica. En concreto, las rejillas criodesecadas y montadas sobre el portamuestras se recubrieron con una fina capa de carbón utilizando un evaporador Emitech (Watford, Reino Unido) dotado de un hilo de grafito (Electron Microscopy Sciences, Madrid) en condiciones de alto vacío.

La cuantificación del contenido iónico de los condrocitos cultivados se llevó a cabo mediante microscopía electrónica analítica, utilizando un microscopio electrónico de barrido Phillips XL 30 (Phillips, Eindhoven, Holanda) acoplado a un detector de energía dispersiva de rayos X EDAX DX4i con una ventana CDU ultrafina (EDAX, Eindhoven, Holanda) y un sistema de detección de electrones retrodispersados de estado sólido (K.E. Development, Cambridge, Reino Unido). La configuración geométrica de este equipamiento posibilita la detección simultánea de electrones secundarios y rayos X. El procedimiento se desarrolló siguiendo protocolos previamente descritos por nuestro grupo de investigación (1) (4) (5) (6) (7).

Para el análisis de expresión génica se extrajo el ARN total de los ocho primeros subcultivos celulares de los condrocitos mantenidos en cultivo utilizando el sistema comercial Qiagen RNeasy System (Qiagen, Mississauga, Ontario, Canadá). Una vez extraído el ARN, se comprobó su integridad y su calidad mediante visualización directa del ARN ribosómico de 28 y 18S en ARN total separado mediante electroforesis en geles de agarosa al 1,2% y tinción con bromuro de etidio, así como mediante el sistema de análisis Agilent (Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, California, EEUU).

A continuación, todos los ARNm fueron transformados en ADNc mediante una transcriptasa inversa (Superscript II, Life Technologies, Inc., Carlsbad, California, EEUU) con un oligonucleótido rico en colas de timina (T7-polyT primer), el cual permitió la amplificación de cualquier ARN mensajero presente en la célula.

Posteriormente, se sintetizaron los ARNc correspondientes a todos los ADNc mediante transcripción *in vitro*, utilizando para ello UTP y CTP marcados con biotina (Enzo diagnostics, Farmingdale, New York, EEUU). Una vez sintetizados, y para favorecer la hibri-

dación, estos ARNc se fragmentaron químicamente añadiendo una concentración elevada de sales y altas temperaturas.

Finalmente, los ARNc marcados y fragmentados se hibridaron frente a los chips que constituyen el sistema de microarray Affymetrix Human Genome U133 plus 2.0 de la casa comercial Affymetrix, durante 16 horas a 45°C. Este sistema incluye 54675 genes y secuencias génicas expresadas (EST), lo cual permite realizar un estudio global de todos los genes y funciones génicas existentes en una célula en un momento dado. Tras un proceso totalmente estandarizado y automatizado, los chips se lavaron y se escanearon para obtener valores absolutos de expresión génica expresados como unidades fluorescentes, en una escala arbitraria (2).

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en los ensayos realizados en los sucesivos subcultivos de condrocitos en el modelo animal y en los condrocitos humanos se expresan en las figuras 2 y 3. Los resultados se expresan en forma de porcentaje de células viables respecto de aquéllas que han incorporado el colorante. Aunque en las células cartilagosas del modelo animal la viabilidad celular alcanza un nivel mas elevado que en los condrocitos humanos resulta evidente que, en ambos tipos celulares, con la utilización de este método de exclusión de colorante la viabilidad de los condrocitos es alta en las poblaciones de los seis primeros subcultivos. La utilización de este método que es el que habitualmente se utiliza para determinar la viabilidad permitiría inferir que las poblaciones condrocíticas de los seis primeros pases serían aptas para su posible utilización en terapia celular.

La utilización de la microscopía electrónica analítica por energía dispersiva de rayos X nos permitió obtener espectros individualizados de las células cartilagosas objeto de estudio (fig. 4). En cada uno de esos espectros se observaron los picos correspondientes a los diferentes elementos existentes a nivel intracelular, así como el fondo o *background* correspondiente a la emisión de la radiación no característica. Los resultados se expresan en relación con la razón K/Na que, de acuerdo Roomans (13) (14) (15), constituye uno de los indicadores más sensibles y fiables de viabilidad celular. Roomans sugiere, además, que la razón o cociente K/Na constituye un exce-

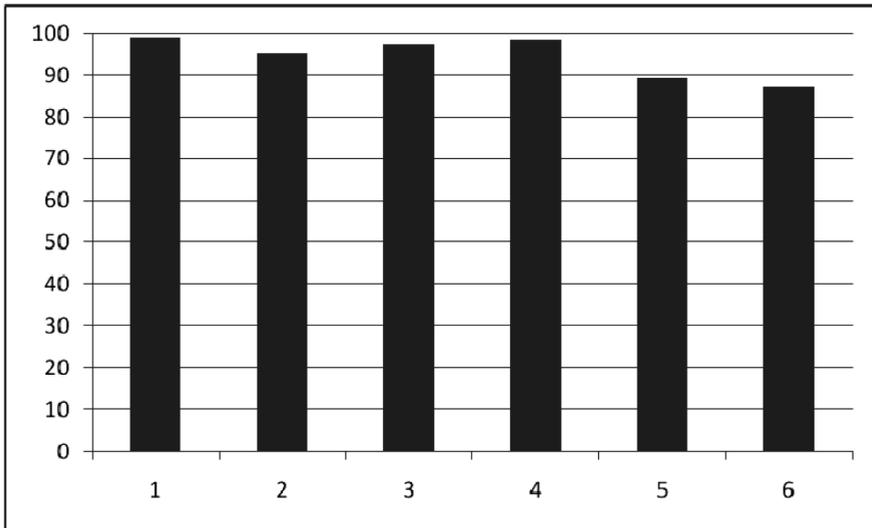


FIGURA 2. Viabilidad determinada por Azul tripan en los seis primeros subcultivos de condrocitos en animal de experimentación.

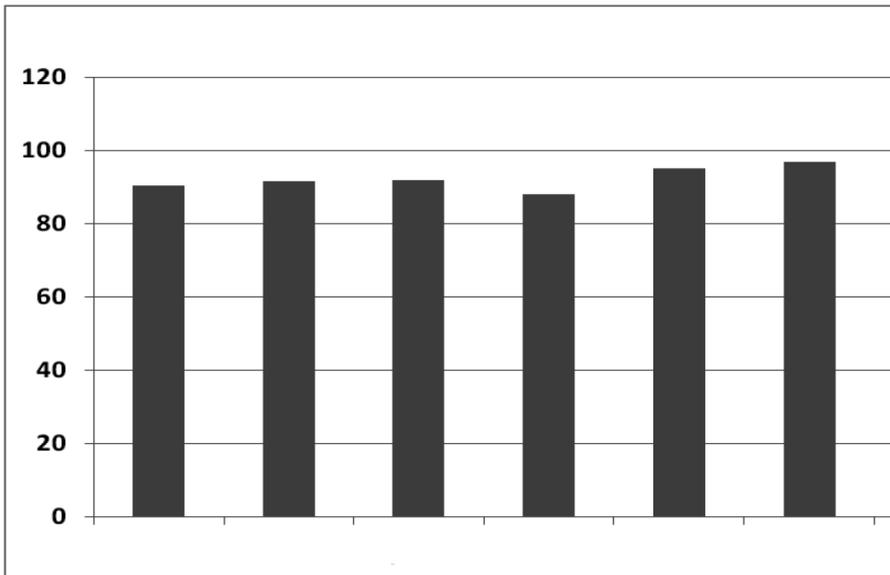


FIGURA 3. Viabilidad determinada por Azul tripan en los seis primeros subcultivos de condrocitos humanos.

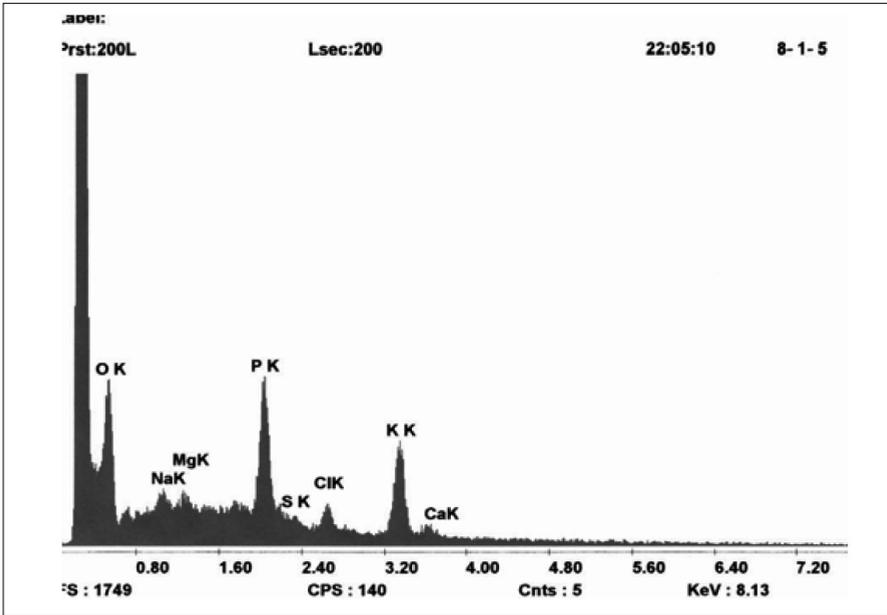


FIGURA 4. Espectro del perfil iónico intracelular obtenido por microscopia electrónica analítica.

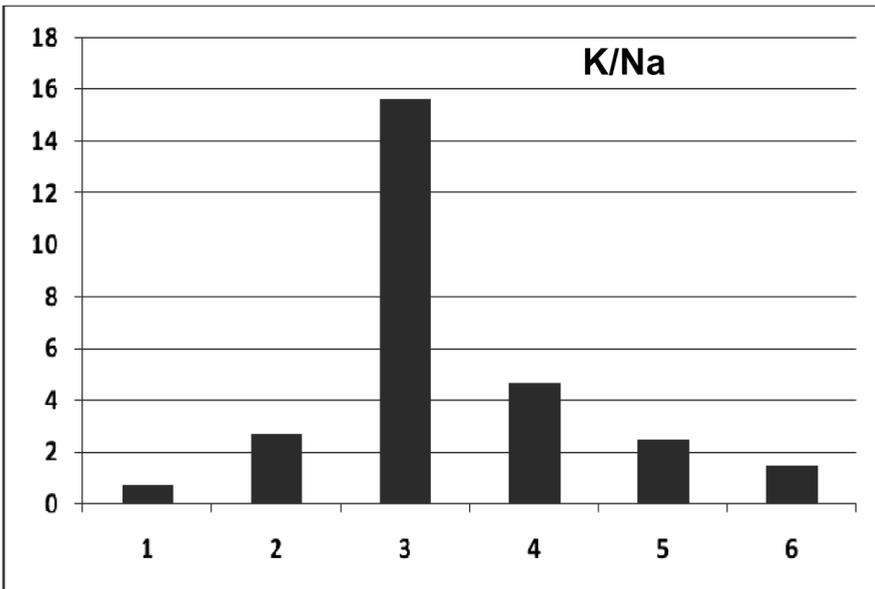


FIGURA 5. Viabilidad determinada mediante el índice K/NA en los seis primeros subcultivos de condrocitos en animal de experimentación.

lente indicador del daño celular, desde el punto de vista microanalítico. Los resultados obtenidos en el modelo animal en los seis subcultivos y los datos iniciales obtenidos hasta el momento en material humano en los dos primeros (figs. 5 y 6) ponen de relieve una marcada heterogeneidad en los distintos subcultivos indicando que no todas las poblaciones de condrocitos de los distintos subcultivos serían aptas en lo que a la viabilidad se refiere para su inclusión en un protocolo de terapia celular.

El análisis de expresión génica mediante la técnica de microarray permitió identificar el nivel de expresión de los genes/EST relacionados con la mortalidad y la diferenciación condral. A tal efecto, las figuras 7 y 8 ponen de relieve el nivel de expresión de la Caspasa 1 y del gen de Condroitin sulfato sintetasa que son indicadores de ambas situaciones en la población condrocítica. El modelo de expresión de todos ellos se caracteriza por un descenso inicial en la expresión génica en los primeros subcultivos, y una cierta tendencia al aumento en los últimos. El estudio de estos indicadores revela que la heterogeneidad es también evidente en los distintos subcultivos.

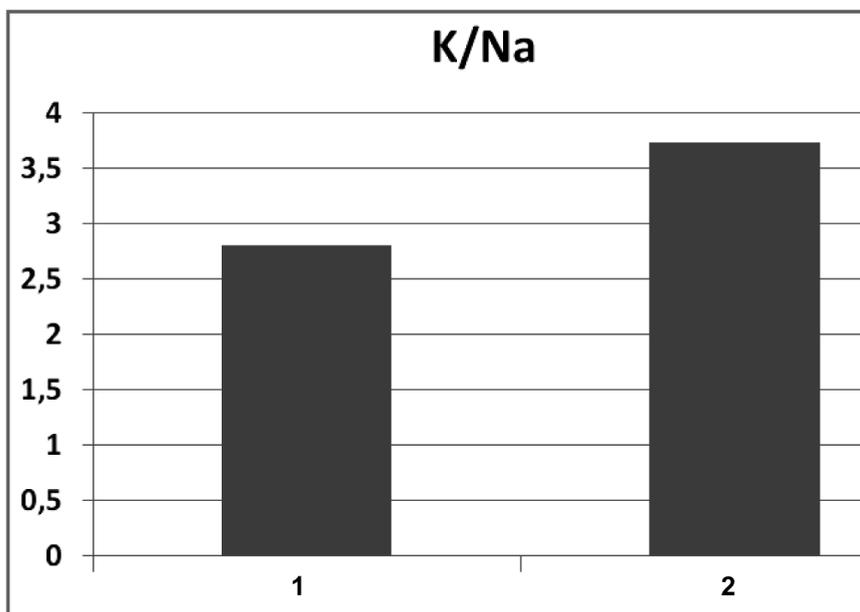


FIGURA 6. Viabilidad determinada mediante el índice K/NA en los dos primeros subcultivos de condrocitos humanos.

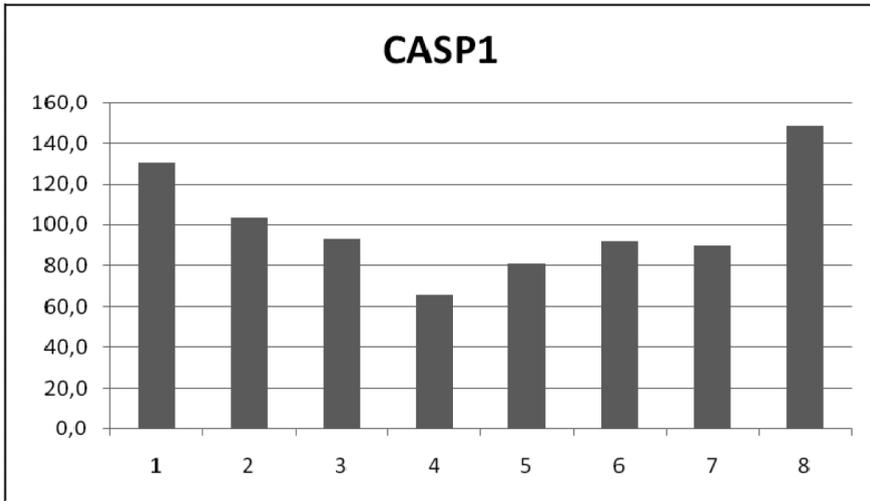


FIGURA 7. Nivel de expresión génica. Caspasa tipo I.

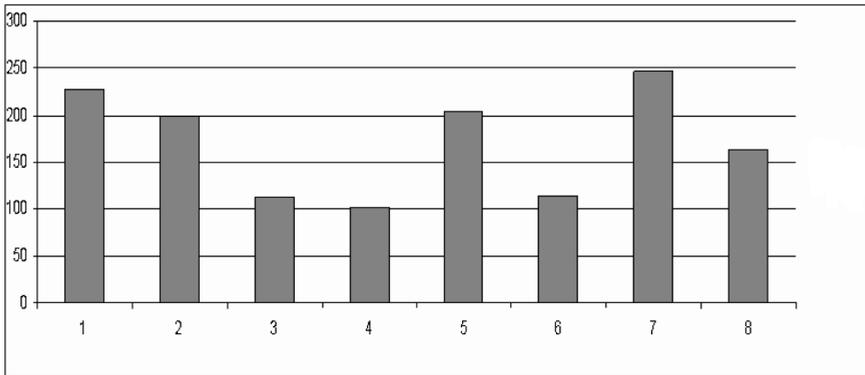


FIGURA 8. Nivel de expresión génica de Condroitin sulfato sintetasa.

El resultado final del estudio preliminar realizado permite constatar que el método de evaluación de la viabilidad basado en la exclusión de colorante, esto es el método con Azul tripan, que ofrece niveles de viabilidad elevado, es poco relevante a la hora de discernir la viabilidad de los distintos subcultivos al establecer como viables células que no lo son según demuestran los otros dos métodos utilizados. La razón estriba en que dicho método solo permite cuantificar las células coloreadas que son aquellas que al estar muertas

facilitan la incorporación citoplásmica del Azul Tripan. La determinación de componente iónico mediante microanálisis no exige la ruptura de la membrana y por tanto permite evaluar la viabilidad de las células en estadios anteriores a su muerte. Igualmente el reconocimiento de la expresión génica en un momento determinado es un indicador del verdadero estado de actividad funcional de una célula. La heterogeneidad demostrada en relación con la eficacia de la terapia celular en los estudios clínicos realizados habría quizá que relacionarla con la utilización en los protocolos de terapia de poblaciones condrocíticas con niveles de viabilidad diferentes.

BIBLIOGRAFÍA

1. ALAMINOS, M.; SANCHEZ-QUEVEDO, M.C.; MUÑOZ-ÁVILA, J. I.; GARCÍA, J. M.; CRESPO, P. V.; GONZÁLEZ-ANDRADES, M.; CAMPOS, A. (2007). «Evaluation of the viability of cultured corneal endothelial cells by quantitative electron probe X-ray microanalysis». *J. Cell Physiol.* 211(3):692-698.
2. ALAMINOS, M.; GARZÓN, I.; SÁNCHEZ-QUEVEDO, M. C.; MOREU, G.; GONZÁLEZ-ANDRADES, M.; FERNÁNDEZ-MONTOYA, A.; CAMPOS, A. (2007). «Time-course study of histological and genetic patterns of differentiation in human engineered oral mucosa». *J. Tissue Eng. Regen Med.* Sep-Oct; 1(5):350-9.
3. BRITTBURG, M.; LINDHAL, A.; NILSSON, A.; OHLSSON, C.; ISAKSSON, O.; PETERSON, L. (1994). «Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation». *N. Engl. J. Med.* 331:889-895.
4. CAMPOS, A.; LÓPEZ-ESCÁMEZ, J. A.; CAÑIZAREZ, F. J.; CRESPO, P. V. (1992). «Electron probe X-ray microanalysis of Ca and K distributions in the otholithinc membrana», *Micro and Microscopica Acta*, 23:349-350.
5. FERNÁNDEZ-SEGURA, E.; CAÑIZAREZ, F. J.; CUBERO, M. A.; REVELLES, F.; CAMPOS, A. (1997). «Backscattered electron imaging of cultured cells: application to electron probe X-ray microanalysis using a scanning a electron microscope», *Journal of Microscopy*, 188:72-78.
6. FERNÁNDEZ-SEGURA, E.; CAÑIZAREZ, F. J.; CUBERO, M. A.; CAMPOS, A.; WARLEY, A. (1999). «A procedure to prepare cultured cells in suspension for electron probe X-ray microanalysis: application to scanning and transmission electron microscopy», *Journal of Microscopy*, 196:19-25.
7. FERNÁNDEZ-SEGURA, E.; CAÑIZAREZ, F. J.; CUBERO, M. A.; WARLEY, A.; CAMPOS, A. (1999). «Changes in elemental content during apoptotic cell death studied by electron probe X-ray microanalysis», *Experimental cell Research.*, 253:454-462.
8. HANGOY, L.; SÖKÖSD, L.; SZABÓ, ZS. (1999). «Repair of cartilage defects. Technical aspects». *Rev Chir Orthop Reparatrice Appar Mot.* 85(8):846-57.
9. LÓPEZ-ESCÁMEZ, J. A.; CAMPOS, A. (1994). «Standards for X-ray microanalysis of calcified structures», *Scanning Microscopy*, 8:171-185.

10. NAKAMURA, N.; MIYAMA, T.; ENGBRETESEN, L.; YOSHIKAWA, H.; SHINO, K. (2009). «Cell-Based therapy in articular lesions of the knee». *Arthroscopy: The journal of arthroscopic and related surgery*, 25(5):531-552.
11. O'DRISCOLL, S. W. (1998). «Current Concept Review: The healing and regeneration of articular cartilage». *J. Bone Joint Surg. (AM)*, 80:1795-1812.
12. RODRÍGUEZ-MORATA, A.; GARZÓN, I.; ALAMINOS, M.; GARCÍA-HONDUVILLA, N.; SÁNCHEZ-QUEVEDO, M. C.; BUJÁN, J.; CAMPOS, A. (2008). «Cell viability and prostacyclin release in cultured human umbilical vein endothelial cells». *Ann Vasc Surg.*, 22(3):440-448.
13. ROOMANS, G. M. and VON EULER, A. (1996). «X-ray microanalysis in cell biology and cell pathology», *Cell biol int.*, 20(2):103-109.
14. ROOMANS, G. M. (1999). «X-ray microanalysis of cultured cells scanning electron microscope and the scanning transmission electron microscope: A comparison», *Scanning Microsc.*, 13:159-165.
15. ROOMANS, G. M. (2000). «Application of X-ray microanalysis to the study of cell physiology in cells attached to biomaterials», *Eur. Cell. Mater.*, 18,1-8.
16. STEINERT, A. F.; GHIVIZZANI, S. C.; RETHWILM, A.; TUAN, R. S.; EVANS, C. H.; NÖTH, U. (2007). «Major biological obstacles for persistent cell-based regeneration of articular cartilage», *Arthritis Res Ther.*, 9(3):213.

INTERVENCIONES

Prof. Munuera

Como es habitual el Prof. Campos nos ha hecho una magnífica exposición y la exposición además de un trabajo como es habitual también en su grupo, muy elegante y muy interesante. Yo quisiera hacer solamente un par de observaciones y un par de preguntas, la primera es que a mi me gustaría subrayar que esta terapia está dirigida a pérdidas de cartílago habitualmente traumáticas, habitualmente en gente joven y además limitadas y de espesor parcial, es decir, que está bien hacer el esfuerzo, pero que como él ha mencionado, al lado de eso subyace toda la patología degenerativa y esto que se dice aquí no se puede extender a la ingeniería tisular o a la regeneración del cartílago. En segundo lugar, esta historia es una historia peculiar porque el tan citado artículo de Brittberg del 94 se publicó en el Journal Medicine, si se hace un análisis crítico es insostenible, no tiene grupo control, no tiene criterios de valoración pero lo publicó Brittberg y a partir de ahí se edificó toda una industria, Carticer y compañía, pero de hecho está funcionando en la medida que está funcionando, desde luego el artículo que ha men-

cionado de revisión si se consulta por ejemplo Cochrane Collaboration se llega a los mismos resultados, etc., pero creo que aquí lo importante es qué se puede hacer para obtener una capacidad regenerativa del cartílago que se parezca en lo posible al cartílago hialino de los adultos y de eso hay algunos trabajos iniciados, la regeneración tiene una suerte y es que las BMP están ahí e inducen a las células inmaduras a la formación de tejido óseo pero no hay unos factores condrogénicos, sin embargo se han hecho dos estudios, uno utilizando el (TFB) Factor Transformante Beta y otro el (ILF) Factor Similar a la Insulina en que parece que podría inducirse de alguna manera a obtener un fenotipo más próximo al cartílago hialino. Mi pregunta es si por esa vía no cabría obtener unos resultados de mayor maduración o expresión fenotípica más exacta y la segunda pregunta es, evidentemente las cifras están ahí y las células de gelatina de Wharton desde el punto de vista de ese magnífico estudio que ha hecho se parecen mucho al condorcito que necesitamos, sin embargo a mi me parece bastante complicado, ¿hay recientemente algún trabajo publicado por algún grupo?, por ejemplo un grupo de China en el que se propone la utilización de células sinoviales, que se puede obtener en la misma rodilla cuando se hace la artroscopia, el Prof. Guillén nos dio el otro día una excelente conferencia sobre lo que él hace que es tan interesante, es decir ¿hay que ir a la gelatina de Wharton?, porque se están haciendo una cantidad enorme de ensayos clínicos o estudios de laboratorio con células mesenquimales procedentes de otros tejidos, y lo de la gelatina de Wharton, si es calidad habrá que optar por la calidad pero desde el punto de vista de la precabilidad clínica a lo mejor hay otras vías. Muchas gracias y reitero mi felicitación y mi agradecimiento porque ha sido muy clarificador.

Prof. Sanz Esponera

Quiero felicitarle no solo por la brillantez con que nos ha presentado esta comunicación sino también porque nos ha presentado una serie de técnicas que él mismo ha sido capaz de innovar y crear. La pregunta mía va a ser muy concreta y es, realmente está utilizando células de la gelatina de Wharton cuando hoy día ya se están utilizando otro tipo de células sobre todo células del tejido adiposo como células progenitoras en esta terapia celular, y yo lo que

me pregunto siempre si los que estamos investigando en ciertos campos cuando hay descubrimiento clave que modifica o que puede transformar lo que nosotros estábamos haciendo en ese momento, debemos abandonar lo que estamos haciendo en esta terapia celular y volver a estas células de reprogramación o seguir con el camino que estamos siguiendo. Muchas gracias.

Prof. Jiménez Collado

Primero felicitar al amigo profesor Campos por la magnífica comunicación que nos ha presentado. No tengo experiencia personal en cultivos celulares y mecanismos diferenciadores de los que ha hablado; sin embargo, a nivel de áreas presuntivas o esbozos iniciales de formaciones, algunas vestigiales y críticas sólo en un corto periodo del desarrollo, en experiencias de injertos heterotípicos, técnica que nos da muy buenos resultados, analizamos y publicamos ya desde antiguo, 1972, el carácter pluripotencial y capacidad prospectiva, así como el tiempo crítico de superior diferencial por inducción mediante esbozos mesonefríticos y de vesículas encefálicas o placodiales aisladas, de formaciones vertebrales, lo que nos sugiere la presencia de inductores secundarios; por ello ¿consideras que la capacidad en estos estadios iniciales sólo es especie-específica?, ¿podríamos obtener condrocitos sólo cultivando material de esta procedencia, o por el contrario, en la rodilla como aquí se viene hablando, de grasa de Hoffa o cuernos meniscales «activados» por inductores secundarios? En injertos hemos obtenido pequeños acúmulos celulares condrocíticos, ¿cuál consideras es el mecanismo o proceso diferenciador de estas experiencias?

De nuevo, enhorabuena y felicidades por tu magnífica comunicación.

Prof. Pérez Pérez

Quiero felicitar al querido amigo Campos por esta magnífica conferencia, no solamente en la exposición brillante, activa, dinámica y vivida, sino también porque me ha recordado muchísimo lo de las células madre del cordón umbilical. Evidentemente el cordón umbilical es una célula de células madre y en este sentido hay que pen-

sar cuando se descubrió que en el cordón umbilical el suero de esta sangre era un factor que determinaba el crecimiento de la línea as-mática y propiedades curativas muy interesantes en la enfermedad Anemia de Fanconi en el niño, entonces se abre un camino interesante, se ha podido demostrar mediante hechos experimentales en animales que cuanto más precoz sea el cordón umbilical mayor número y variedad hay de células madre, quiere esto decir que el cordón umbilical es un excedente de células madre cuando se trata de un post-natoru, es decir de un parto normal, pero es mucho más rico y variante cuando este cordón umbilical procede de partos que no han terminado, con esto quiero decir que tal vez es este futuro lamentable que se nos avecina del tema del aborto, sería muy importante pensar que en estos fetos abortados el cordón umbilical es una fuente importantísima de células madre, evidentemente en estas células madre abundan los condrocitos, etc. y es, como vuelvo a repetir, el excedente que al embrión le ha sobrado en su desarrollo normal y que a partir del parto está ahí pero antes del parto es muy más abundante. Muchas gracias y felicidades.

Prof. Blázquez Fernández

De nuevo enhorabuena, una vez más por esta brillante presentación y este interés que tiene el tema. Dos preguntas: una, los condrocitos que consigue ¿qué eficiencia tienen respecto a las células iniciales, qué porcentaje? Y segundo, ¿qué propiedades funcionales tienen esos condrocitos? Y la segunda pregunta es ¿si considera este sistema de diferenciación mejor que aquellos que se pueden obtener a partir de las células mesenquimales de la célula ósea?

Prof. Serrano Ríos

Muchas gracias, Prof. Campos, la presentación ha sido realmente espectacular. Yo tengo también ciertas preguntas metodológicas, algunas relacionadas con las que ha hecho el Prof. Blázquez. En primer lugar es que la combinación bioquímica o genética muestra claramente que la tinción trypan no es suficientemente sensible para identificar cuales son las que sobreviven y destacan a un determinado tiempo. En relación con eso me gustaría saber cuál es el rendimiento y una vez seleccionada esa subfamilia de células cuál es el

rendimiento de su obtención y su propagación, es decir, cómo se propagan y se dejan las demás. El segundo punto, que es importante y yo tengo interés por otras razones en las terapias celulares evidentemente, es una de las estrategias habituales que se utilizan, es identificar factores de transcripción en los cuales partiendo de la célula mesenquimal o en este caso de la más primordial en la serie del condrocito se van transformando e induciendo la transdiferenciación para lo cual no hacen falta muchos factores de transcripción, por ejemplo el caso de la célula Beta, a partir del tejido adiposo con el PDX y alguna otra más se acabó, incluido el de IGF1 que antes se ha citado y eso no lo he visto citado y gustaría saber si esa estrategia es la que se utiliza. Luego hay un punto que yo creo en todos los temas relacionados a terapia celular surge, una cosa es cómo se transfieren in Vitro y otra muy distinta cuando se les pone en su ambiente natural y no me refiero al rechazo, me refiero en que al transferir un condrocito, una célula Beta, un hepatocito, etc., al medio en el que ha de vivir, sea el hígado, sea el páncreas, sea la cavidad articular, no me refiero al rechazo, precisamente ahí el rechazo será menor porque hay menos capacidad inmunoagresiva sino al ambiente iónico, al ambiente de otras células que modulan que establecen un crosstalk con las mismas, es decir, la supervivencia exigiría también que esas fueran capaces de resistir el medio natural y yo no sé si eso es simulable de alguna manera experimentalmente porque uno tiene la impresión en otros aspectos que se hace el implante y ya está, pero no está y esa es la causa del fracaso en muchísimos sitios, que uno induce por factores de transcripción y este punto me parece que es importante, pero después se produce una represión de esos factores de transcripción por moléculas con las que interacciona en su medio natural. La pregunta por tanto en este aspecto es, ¿se puede simular incluso por modelos informáticos, cómo esos condrocitos tan seleccionados, tan diferenciados viven in Vitro pero cómo viven en la realidad articular donde la temperatura y otros factores se detectan. Muchísimas gracias, creo que es muy riguroso y muy bueno.

Dr. Pedro Guillén García

Yo felicito primero a D. Antonio. Realmente cualquier célula que podemos nosotros llevar a condrocito sin hacer una primera opera-

ción es importantísimo. En las técnicas que hacemos hoy de condrocitos, hacemos una primera operación, extraemos el producto, lo cultivamos y hacemos una segunda operación, son dos operaciones que se hacen todas las personas que llevan injerto de condrocito autólogo, por tanto aquella técnica que haga pasar una célula sin precisión en una operación va a ser bienvenida, lo que ocurre que las células mesenquimales nosotros las hemos hecho con grasa y cuando esas células grasas mesenquimales se ponen en el ambiente del condrocito, cuando se estudian posteriormente no son condrocitos, es fibrocartílago, no tiene colágeno tipo 2, no tiene agreganos, no se localiza, para mi es bienvenido, ahora ¿qué sustancia o qué elemento considera D. Antonio que habría que darle a esas células, qué molécula, qué factor de crecimiento hay que darle a esa célula?, y que la acepte bien y no pase nada, para llegar a condrocito, porque yo soy el primero en aceptar esa célula mesenquimal para no hacer una primera operación pero, y termino, ¿qué partícula, qué elemento, que Ap4A, qué dinucleótido, qué hormona de crecimiento se le puede dar para que esa célula se convierta en condrocito y sea útil para colocarla? Muchas gracias.

Prof. Rodríguez Rodríguez

Excelente presentación de excelente realización D. Antonio. En un momento habla de la expresión génica hacia el colágeno 11 o la colágena 11 y en otro momento, como es muy natural en el cultivo, habla de la función en relación con el colágeno 2, que como se acaba de decir es el más característico y por tanto el que la triple hélice, las tres cadenas son exactamente iguales, que es lo que les caracteriza, pero ¿por qué una vez el 11 y otra vez el 2? Y la segunda pregunta es ¿interesaría ver los otros tipo de colágeno si se forman el 1, etc., que no es el más abundante del condrocito, pero que podía interferir en esos condrocitos la viabilidad y la eficacia o eficiencia de ese condrocito? Muchas gracias y felicitaciones.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Muchas gracias a los dos Académicos que han intervenido en el día de hoy. Muchas gracias al Prof. Campos por su magnífica expo-

sición, como las hace él y él siempre recuerda, haciendo una referencia a aquello de «tener algo que decir, decirlo y no decir nada más». El Prof. Campos es capaz en veinte minutos de cumplir con ese propósito, de la misma forma que también lo cumple a la hora de contestar. Remedando lo anterior yo diría «tener algo que contestar, contestarlo y no contestar nada más». Nos ha dado una brillante conferencia sobre un tema producto de los muchos que en los que esta investigando con su grupo de trabajo. Líneas de investigación inquietantes que despiertan siempre las preguntas y sobre todo en los clínicos. Ha iniciado su presentación partiendo de la clínica, lo cual es de agradecer, refiriéndose a la enorme cantidad de personas que padecen enfermedad articular crónica, personas que sufren y que tienen pocas esperanzas de encontrar grandes satisfacciones terapéuticas.

La primera pregunta que surge de sus estudios es si, ¿esto como se puede aplicar? Es cierto que como bien ha dicho está muy lejos de la aplicación clínica, y que por tanto son investigaciones muy básicas. Sin duda la terapia celular está aun en fase embrionaria, tanto que sacar conclusiones definitivas es todavía aventurado, aunque estudios tan brillantes como los presentados por el Prof. Campos nos llenan de esperanza.

Debemos felicitar efusivamente también al Prof. Pedro Sánchez, el cual ha dejado constancia de algo que tiene mucho valor, y es que somos muy propensos a hablar siempre de lo de hoy olvidándose de lo de ayer. El Prof. Pedro Sánchez ha hecho un recorrido histórico prácticamente del último siglo sobre la neurotransmisión, así como el significado y la importancia que han tenido una enorme cantidad de investigadores a lo largo de todo el siglo. Nos ha impresionado contándonos y también las miserias y las grandezas de muchos de los personajes a los que ha hecho referencia. De tales grandezas y miserias está sin duda llena la vida y por supuesto nuestra Medicina. Todo a cuanto se ha referido tiene mucha enseñanza, no solo para la gente joven, sino también para los mayores. No hay dudas que determinadas posturas éticas en personajes históricos de nuestra medicina han chocado siempre con conductas reprobables, y tan solo su conocimiento y reflexión nos aporta grandes enseñanzas.

También ha hecho una referencia a todas las enormes diferencias, teorías, contradicciones que ha habido a lo largo del siglo y de alguna forma también esto engarza con lo actual, es decir, por ejemplo cuales son los mejores medios de cultivo, cuales son los mejo-

res desarrollos, de donde cogemos las mejores células madre, donde están, etc. Decía el Prof. Pedro Sánchez, que al final todos tienen razón, cada uno tiene su razón y de la razón de todo llegamos a unas conclusiones que parten de la observación. Ha hecho referencia en uno de los personajes, creo que era Eliot, un simple estudiante de medicina, un estudiante de fisiología capaz de poner sobre aviso a los más avezados para poder poner en marcha otros mecanismos de investigación.

Ha sido una sesión verdaderamente preciosa tanto por la exposición del Prof. Sánchez como del Prof. Campos, y una vez más uno se va de aquí feliz por cuanto siempre aprende, quedando admirado y maravillado por la calidad y la competencia de los Señores Académicos.

Muchísimas gracias a todos cuanto también han intervenido, se levanta la Sesión.

X SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 13 DE ABRIL DE 2010

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

**SECUELAS ORGÁNICAS EN EL DEPORTISTA
DE ÉLITE DOPADO**
ORGANIC INJURIES IN DOPED ELITE SPORTS MEN

Por el Ilmo. Sr. D. MANUEL VITORIA ORTIZ

Vicepresidente y Académico de Número de la Real Academia
de Medicina del País Vasco

Resumen

El nivel técnico de los deportistas en varios deportes mejora de año en año. Las marcas de atletismo alcanzan nuevas alturas, y el margen entre el éxito y el fracaso en el mundo del deporte se vuelve más pequeño. En consecuencia, tanto los entrenadores como los deportistas buscan esta leve diferencia que asegura la victoria. Pueden volver su interés hacia las ayudas ergogénicas (sustancias o fenómenos que mejoran el rendimiento). Algunas de estas ayudas pueden beneficiar el rendimiento, pero otras pueden tener consecuencias letales. El autor presenta las secuelas en el cuerpo humano en el deportista de élite que ha utilizado sustancias prohibidas para mejorar su rendimiento deportivo.

Abstract

The technical level of the sportsmen in different Sports increases every year. The athletic records reach new heights and the margin between success and failure in the world of sports becomes smaller. Therefore, trainers and sportsmen look for this small difference to secure the victory. They may try to get the support from ergogenetic substances (to improve the performance). Some of these supports may benefit the performance but others may have lethal consequences. The author presents the consequences in human body of the elite sportsman who have used prohibited substances to improve the sport performance.

PINCELADA CON REFERENCIAS HISTÓRICAS

A pesar de que serían interminables las ocasiones en que el hombre ha intentado servirse de alimentos específicos o técnicas quirúrgicas para mejorar su rendimiento físico, militar... voy a presentar brevemente algunas de ellas. De todos modos, la Antropología Comparada las ha coleccionado y publicado ampliamente.

Son numerosas las reseñas bibliográficas que hacen mención a la gran cantidad de ayudas ergogénicas que se han venido utilizando a lo largo de la historia. Según referencias de Milón de Crotona (siglo v A.c.), ya en la Grecia Clásica, los deportistas trataban de aumentar su fuerza física consumiendo grandes cantidades de carne. Así pues, era habitual que los saltadores olímpicos tomaran carne de cabra, los lanzadores y boxeadores carne de toro, y los luchadores de cerdo. Cuando el Corpus Hippocraticum da forma a la medicina griega que va a ser posteriormente la medicina moderna, los corredores de fondo solían aplicarse preparados de hongos desecados, e ingerir cocimientos de plantas antes de las carreras, con el fin de incrementar el rendimiento. Hipócrates insistía en la necesidad de introducir cambios cualitativos y cuantitativos en la alimentación, sobre todo, en relación al período estacional, advirtiéndolo, no obstante, del peligro que podían comportar tanto los regímenes dietéticos severos como las variaciones bruscas en los hábitos alimenticios. También resaltaba la conveniencia de una adecuada ingesta hídrica durante los periodos de fatiga.

Prácticas antiguas como la cauterización del bazo, que al tornarse duro y congestivo obstaculizaba significativamente la rapidez en la carrera, también eran intervenciones dirigidas hacia la mejora del rendimiento deportivo. Por otra parte, en tiempos de Plinio, se daban cocimientos de bazo para mejorar las marcas de los velocistas.

También existen evidencias de la práctica de intervenciones de este tipo en la época romana. Se sabe que, con una parte de la ración diaria de trigo molido que consumían los legionarios romanos, se preparaba una papilla que era consumida de inmediato con el fin de incrementar el rendimiento, utilizando el resto del trigo para elaborar el pan.

Durante las marchas prolongadas, el consumo de carne era poco habitual por considerarse un alimento capaz de disminuir considerablemente la capacidad de rendimiento y la resistencia de los atle-

tas. Una actitud que parecía intuir las propiedades predominantemente plásticas y poco energéticas de las proteínas.

Paracelso, inspirado en la ciencia de los signos, y en la forma externa de las cosas, usaba el espárrago y el bulbo de apio, por su semejanza con el miembro viril, para reforzar la potencia sexual. En el Imperio de los Incas, masticar y condimentar los alimentos con hojas de coca, se asociaba a mejoras en la resistencia física.

INTRODUCCIÓN

El deporte constituye, hoy día, uno de los fenómenos culturales que mayor interés está suscitando en las sociedades modernas.

El concepto de deporte ha ido modificándose y adquiriendo una gran complejidad a lo largo de los últimos años, un hecho que no es más que un reflejo del cambio social experimentado por nuestra población, cada día más próxima al modelo de sociedad occidental. Las crecientes tasas de industrialización y urbanización, y las mejoras en el bienestar social, son algunas de las razones que han influido sobre las modificaciones tanto de estilo de vida como de la forma de organizar el tiempo libre.

Aunque el deporte, entendido como actividad lúdico-recreativa, goza hoy por hoy, de una posición privilegiada entre las actividades de tiempo libre de la población, la importancia que viene adquiriendo en los últimos años, como espectáculo y como foco de atención de los medios de comunicación, ha ido incrementando de forma ostensible las exigencias de rendimiento físico impuestas a los deportistas. El nivel técnico de los deportistas está avanzando a pasos agigantados, las marcas son cada vez mejores, y el margen entre el éxito y el fracaso deportivo, se va haciendo progresivamente más reducido. Por ello, el objetivo prioritario tanto de entrenadores como de deportistas suele centrarse en la consecución de ventajas, que aunque leves, pueden asegurar de alguna forma la victoria competitiva, siendo ésta, una actitud que justifica en gran medida el interés progresivo que viene suscitando en nuestra sociedad actual el empleo de ayudas ergogénicas, no sólo en el deporte de alto nivel, sino también en el ámbito deportivo no profesional.

Por esto creo que debo comenzar a presentar la base de este trabajo. Una cosa son las sustancias ergogénicas y otra cosa es el dopaje. Las primeras están dentro de los límites permitidos y lo segun-

do está penalizado por leyes y castigado con penas de suspensión y carcelación.

La palabra ERGOGENIA procede de los vocablos griegos «ergos» que significa trabajo y «genan» que significa generar. Williams, en 1989, la definió como: «*el procedimiento o agente que mejora la producción, el control o la eficiencia de la energía, y proporciona a deportista una ventaja que le permite rendir por encima y más allá de lo que conseguiría con su habilidad natural o con el entrenamiento*». En el extremo opuesto, aquellas manipulaciones capaces de ejercer un efecto negativo sobre el rendimiento físico, reciben la denominación de ergolíticas. Realmente, el concepto de ergogenia incluye una serie de intervenciones que van más allá de las clásicas manipulaciones nutricionales y farmacológicas.

Los criterios que vienen empleándose para categorizar las ayudas ergogénicas existentes son muy numerosos. Aunque a continuación se identifican cinco grupos, en esta revisión solamente se examinarán algunas de las ayudas farmacológicas y nutricionales más utilizadas:

- Ayudas mecánicas (vestimentas, zapatillas, etc.)
- Ayudas psicológicas (hipnosis, psicoterapia)
- Ayudas fisiológicas (dopaje sanguíneo)
- Ayudas farmacológicas (cafeína, antioxidantes, etc.)
- Ayudas nutricionales (sobrecarga de carbohidratos, creatina, etc.)

CONSIDERACIONES GENERALES DE LA INVESTIGACIÓN

Para satisfacer a la comunidad científica, los científicos con frecuencia confían en las técnicas de laboratorio para evaluar la eficacia de cualquier potencial ayuda ergogénica o dopante. No obstante, muchas veces los estudios científicos no pueden dar respuestas absolutamente claras a las cuestiones en estudio. En los deportistas de élite, el éxito se define en fracciones de segundo o en milímetros. Las pruebas de laboratorio con frecuencia no son capaces de detectar diferencias tan sutiles en los resultados.

Los científicos pueden verse muy limitados por la precisión de su material o de sus técnicas. Todos los métodos de investigación tienen cierto margen de error. Si los resultados caen dentro del margen de error, el investigador no puede estar seguro de que el

resultado sea un efecto de la sustancia que se está probando. Los resultados pueden reflejar limitaciones de la metodología de investigación. Desgraciadamente, debido a los errores de medición, a las diferencias individuales y a la variabilidad de un día para otro en las respuestas de los sujetos, una ayuda ergogénica potencial puede ejercer un efecto importante antes de que las pruebas ergogénicas puedan probar si es ergogénico o dopante.

La situación de prueba puede limitar también la precisión. El rendimiento en un laboratorio es considerablemente diferente del rendimiento en el campo donde el deportista practica normalmente, por lo que los resultados de laboratorio no siempre reflejan con precisión los resultados obtenidos en el campo. De todos modos, una ventaja de las pruebas realizadas en laboratorio estriba en que el ambiente puede controlarse cuidadosamente, lo cual resulta imposible en el campo, donde varias nuevas variables (temperatura, humedad, viento y distracciones) pueden afectar los resultados. Una prueba a fondo de una potencial ayuda ergogénica debe incorporar pruebas de campo y de laboratorio.

Comprendiendo que la ciencia tiene limitaciones en su capacidad para determinar la eficacia de una sustancia, podemos ahora examinar algunas ayudas ergogénicas propuestas que están en el límite con el doping puro y duro. Clasificaremos las sustancias en cuatro clases distintas:

1. Agentes farmacológicos.
2. Agentes hormonales.
3. Agentes fisiológicos.
4. Agentes nutricionales.

Agentes farmacológicos

Numerosos agentes farmacológicos, o medicamentos, han sido sugeridos como poseedores de propiedades ergogénicas. El Comité Olímpico Internacional (COI), el Comité Olímpico de EE.UU., la Federación Internacional de Atletismo Amateur (FIAA) y la Asociación Nacional de Atletismo Colegiado (ANAC) publican extensas listas de sustancias prohibidas, la mayoría de las cuales son agentes farmacológicos. Cada deportista, entrenador, preparador físico y médico de equipo, deben saber qué medicamentos se le prescribe y toma el deportista, y deben comprobar periódicamente que estos

medicamentos no se hallen en la relación de sustancias prohibidas, porque la lista cambia frecuentemente. . Hay deportistas que han sido descalificados y que han tenido que devolver medallas, cintas, trofeos y premios después de haber dado positivo por una sustancia prohibida. En la mayoría de los casos, la medicación se ha usado legítimamente para tratar un trastorno médico conocido.

Analizaremos solamente las sustancias para las que se ha establecido una base de investigación. Muchas otras han sido pregonadas como ergogénicas, pero todavía deben llevarse a cabo estudios controlados para determinar si son efectivas. Las sustancias que vamos a tratar son:

- el alcohol,
- las anfetaminas,
- los bloqueadores beta,
- la cafeína,
- la cocaína,
- los diuréticos,
- la marihuana,
- la nicotina.

El alcohol en los deportes: la posición ACSM

Recientemente, ha existido una considerable preocupación sobre el creciente número de deportistas que se vuelven alcohólicos como consecuencia del abuso indiscriminado del alcohol. Esto suele ser el resultado del hábito social de beber y no de la ingestión de alcohol como ayuda ergogénica. La mayoría de equipos profesionales de todos los deportes establecen ahora programas de rehabilitación del alcohol y de las drogas con grupos profesionales para facilitar el tratamiento de los deportistas que admiten o que han sido identificados como que tienen problemas con el abuso de estas sustancias. El American College of Sports Medicine (ACSM) publicó la declaración de su posición en 1982, *The use of Alcohol in Sports*, que presenta un excelente resumen de la literatura y recomendaciones generales sobre el uso y abuso del alcohol. El ACSM concluye como sigue:

1. La ingestión aguda de alcohol puede ejercer un efecto nocivo sobre una amplia variedad de habilidades psicomotoras como

el tiempo de reacción, la coordinación oculomanual, la precisión, el equilibrio y la coordinación compleja.

2. La ingestión aguda de alcohol no influirá sustancialmente en las funciones metabólicas o fisiológicas esenciales para el rendimiento físico, tales como el metabolismo, el consumo máximo de oxígeno (VO_2 máx), la frecuencia cardíaca, el volumen sistólico, el gasto cardíaco, el flujo sanguíneo a los músculos, la diferencia arteriovenosa de oxígeno o la dinámica respiratoria. El consumo de alcohol puede dificultar la regulación de la temperatura del cuerpo durante la realización prolongada de ejercicios en un ambiente frío.
3. La ingestión aguda de alcohol no mejorará y puede reducir la fuerza, la potencia, la resistencia muscular local, la velocidad y la resistencia cardiovascular.
4. El alcohol es la droga de la que más se abusa en EE.UU. y es un importante factor responsable de los accidentes y sus consecuencias. Asimismo, ha sido documentado ampliamente que el consumo excesivo de alcohol durante mucho tiempo puede provocar cambios patológicos en el hígado, el corazón, el cerebro y los músculos, que pueden producir incapacidad y la muerte.
5. Deben hacerse serios y continuos esfuerzos para educar a los deportistas, entrenadores, educadores físicos y de la salud, médicos, los medios de comunicación deportiva y el público en general en relación con los efectos de la ingestión aguda de alcohol sobre el rendimiento físico y sobre los potenciales problemas agudos y crónicos del consumo excesivo de alcohol.

Riesgo del uso de anfetaminas

La experiencia indica que la utilización de anfetaminas es inherentemente peligrosa. Se han atribuido muertes al excesivo consumo de anfetaminas. Debido a la elevación de la frecuencia cardíaca y de la tensión arterial, los consumidores de anfetaminas experimentan un incremento en sus sistemas cardiovasculares. Estas sustancias también activan arritmias cardíacas en algunos individuos susceptibles. Asimismo, más que retrasar el inicio de la fatiga, las anfetaminas capacitan a los deportistas para esforzarse peligrosamente más allá de los límites normales hasta el punto de la insuficiencia circulatoria.

ria. Las muertes han tenido lugar cuando a los deportistas se les ha animado a seguir esforzándose mucho más allá del punto normal de agotamiento.

Las anfetaminas pueden ser psicológicamente adictivas debido a las sensaciones de euforia y de vigor que provocan. Pero estas sustancias pueden también ser adictivas físicamente si se toman con regularidad y la tolerancia de una persona a ellas aumenta con el uso continuado, exigiendo cantidades cada vez mayores para obtener los mismos efectos. Las anfetaminas también pueden ser tóxicas. El nerviosismo extremo, la ansiedad aguda, el comportamiento agresivo y el insomnio son con frecuencia efectos secundarios de su consumo regular.

Efectos demostrados de los bloqueadores adrenérgicos beta

Los bloqueadores beta reducen los efectos de la actividad del sistema nervioso simpático. Esto queda bien ilustrado por la notable reducción de la frecuencia cardíaca máxima con la administración de bloqueadores beta. Para un deportista masculino de 20 años de edad con una frecuencia cardíaca máxima normal de 190 latidos/min., no es raro tener una frecuencia cardíaca máxima de 1130 latidos/min, al tomar bloqueadores beta. Con estos medicamentos, la frecuencia cardíaca en reposo y submáxima también se reduce. Diversos estudios han confirmado la existencia de mejores puntuaciones como resultado de esta reducción de la frecuencia cardíaca en los deportes de tiro cuando los sujetos usan bloqueadores beta. Por ello, el COI, el Comité Olímpico de EE.UU. y la ANAC han prohibido el uso de bloqueadores beta para estos deportes.

El cuerpo contiene dos tipos de receptores adrenérgicos beta: los beta-1 y los beta-2. Los bloqueadores beta no selectivos afectan a ambos tipos de receptores, pero los bloqueadores selectivos beta-1 afectan sólo a los receptores beta-1. Éstos se localizan principalmente en el corazón, por lo que un bloqueador selectivo beta-1 reduce el ritmo y la contractilidad del corazón. Los receptores beta-2 se localizan en los vasos sanguíneos, los pulmones, el hígado, los músculos esqueléticos y los intestinos. Puesto que bloquean ambos tipos de receptores, los bloqueadores beta no selectivos tiene efectos más generales que selectivos: pueden afectar el flujo sanguíneo, el flujo de aire y el metabolismo. Si un deportista debe tomar un medica-

mento bloqueador beta por un trastorno médico, generalmente se suele preferir los bloqueadores selectivos porque tienen menos efectos negativos sobre el rendimiento.

Estudios de laboratorio han demostrado que los medicamentos bloqueadores beta reducen:

- el consumo máximo de oxígeno, especialmente en los individuos muy entrenados;
- la capacidad ventilatoria máxima, puesto que se reduce el flujo de aire a través de las vías respiratorias;
- la frecuencia cardíaca submáxima y máxima;
- el gasto cardíaco máximo, ya que el volumen sistólico no puede aumentar lo suficiente como para compensar la menor frecuencia cardíaca, y
- la tensión arterial, puesto que el gasto cardíaco se reduce.

Los resultados de estos estudios de laboratorio han sido confirmados por estudios controlados durante la celebración de competencias reales. En un estudio sobre corredores de fondo, éstos necesitaron un promedio de 35,8 min. para completar la carrera de 10km. Al usar un bloqueador beta no selectivo, los corredores dieron una media de 41 min. (un 14,5% más de tiempo); pero al usar un bloqueador beta-1 no selectivo, los corredores dieron un promedio de 39,2 min. (9,5% más de tiempo).

Por último, los medicamentos bloqueadores beta parecen tener poca influencia sobre la fuerza, la potencia y la capacidad de fuerza muscular local (en actividades que producen fatiga en menos de 2 min.). Por lo tanto, dependiendo del tipo de rendimiento deseado, los bloqueadores beta pueden ser ergogénicos (precisión en los deportes de tiro), ergolíticas (reducida capacidad aeróbica) o sin efecto (fuerza, potencia y resistencia muscular local).

Riesgos derivados del uso de bloqueadores beta

La mayor parte de los riesgos presentados por los bloqueadores beta están relacionados con su uso prolongado, no con su administración ocasional en atletismo. Los bloqueadores beta pueden inducir broncospasmo en personas con asma. Pueden producir insuficiencia cardíaca en atletas que tiene problemas subyacentes en la función cardíaca. En personas con bradicardia, estos medicamentos pueden provocar el bloqueo del corazón. La menor tensión arterial que pro-

ducen puede dar lugar a mareos. Algunas personas con diabetes de tipo II pueden volverse hipoglucémicas, ya que los bloqueadores beta incrementan la secreción de insulina. Estos medicamentos, mediante sus diversos efectos, pueden producir fatiga pronunciada, lo cual puede inhibir el rendimiento deportivo y reducir la motivación.

Cafeína

La cafeína, una de las drogas de más amplio uso en el mundo, se encuentra en el café, el té, el cacao, las bebidas no alcohólicas y algunos otros alimentos. Esta droga también es común en diversos medicamentos que se venden sin receta médica, con frecuencia incluso en compuestos simples de aspirina. La cafeína es un estimulante del sistema nervioso central y sus efectos son similares a los observados previamente para las anfetaminas, aunque más débiles.

Riesgos del consumo de cafeína

En las personas que no están acostumbradas a la cafeína, que son sensibles a la misma o que la consumen en grandes dosis, ésta puede producir nerviosismo, desasosiego, insomnio y temblores. La cafeína actúa también como diurético, incrementando el riesgo de deshidratación del deportista y de enfermedades relacionadas con el calor al participar en actividades deportivas en ambientes calurosos. Puede alterar los modelos normales del sueño, contribuyendo a la fatiga. La cafeína es también adictiva, incluso para el bebedor de un solo café al día. La interrupción súbita del consumo de cafeína puede producir dolores de cabeza, fatiga, irritabilidad y trastornos gastrointestinales.

Cocaína

Se sabe poco sobre la influencia de las llamadas drogas recreativas, tales como la cocaína, sobre el rendimiento deportivo. La cocaína actúa como estimulante del sistema nervioso central. También se caracteriza por ser una droga simpatomimética y sus acciones son muy similares a las de las anfetaminas.

La cocaína bloquea la recaptación de noradrenalina y dopamina (dos importantes neurotransmisores) por las neuronas después de su

liberación. Recordemos que la noradrenalina es liberada por los nervios simpáticos, incluidos los que abastecen el corazón. Tanto la noradrenalina como la dopamina son usadas en el cerebro. Bloqueando su recaptación, la cocaína potencia los efectos de estos neurotransmisores por todo el cuerpo.

Riesgos del uso de la cocaína

Los deportistas deben reconocer que aunque el rendimiento deportivo pueda beneficiarse de la cocaína, los riesgos asociados con su uso superan en mucho a todos sus beneficios. Varios análisis globales de la literatura de investigación concluyen que el uso de la cocaína lleva asociados riesgos tremendos para la salud y ningún beneficio conocido en los resultados deportivos.

La muerte de algunas figuras deportivas destacadas ha sido atribuida directamente al uso de la cocaína.

La cocaína puede inducir problemas psicológicos tales como agitación, irritabilidad, inquietud y ansiedad. Puede producir insomnio y, si se usa de modo habitual, puede provocar psicosis de cocaína, en la cual el consumidor alucina y puede volverse paranoico.

Fisiológicamente, la inhalación repetida de cocaína puede inflamar y, en última instancia, destruir los tejidos nasales. Más importante aún, la droga incrementa los efectos de la noradrenalina sobre el corazón, lo cual puede producir graves, e incluso fatales, arritmias. Incrementando drásticamente la estimulación del corazón, la cocaína impone una desproporcionada tensión incluso sobre un corazón sano. Debido a la rapidez con que se producen estos efectos, el corazón se ve enfrentado repentinamente con esta fuerte tensión, que puede conllevar una parada cardíaca. Con la tensión añadida del rendimiento físico, el riesgo de muerte se incrementa notablemente.

La cocaína es una de las drogas más adictivas, especialmente en su forma más pura: *el crack, o cocaína rock*. Ahora, con la mortal *cocaína crack* cada vez más asequible en virtualmente todas las comunidades, el problema de la cocaína en EE.UU. se ha agravado considerablemente. Entre los deportistas, el uso de la cocaína comienza frecuentemente con carácter recreativo, pero se convierte rápidamente en una adicción. Los consumidores sienten un ansia intensa por la gran excitación que proporciona la cocaína. Toman la droga con mayor frecuencia, necesitando dosis más altas para conseguir la misma excitación.

Diuréticos

Los diuréticos afectan los riñones, aumentando la formación de orina. Utilizados apropiadamente, liberan al cuerpo del exceso de fluido y se prescriben frecuentemente para controlar la hipertensión y reducir el edema (retención de agua) asociado con la insuficiencia congestiva del corazón y otras afecciones.

Riesgos del uso de diuréticos

Los diuréticos también dificultan la termorregulación. Cuando el calor interno del cuerpo aumenta, debe desviarse más sangre hacia la piel para poder perder calor hacia el ambiente. No obstante, cuando el volumen de plasma de la sangre disminuye, como en los casos en que se usan diuréticos, debe haber más sangre en las regiones centrales para mantener la tensión venosa central hacia los órganos vitales. Por lo tanto, hay menos sangre disponible para dirigirla hacia la piel y la pérdida de calor se dificulta.

Puede producirse también un desequilibrio de electrólitos. Muchos diuréticos producen pérdida de fluidos al asegurar una pérdida de electrólitos. Un diurético llamado *furosemida* inhibe la reabsorción de sodio en los riñones, permitiendo que se excrete más en la orina. Puesto que el fluido sigue al sodio, se excretará también más fluido. Los desequilibrios de electrólitos pueden tener lugar con pérdidas de sodio o de potasio. Estos desequilibrios pueden ocasionar fatiga y calambres musculares. Desequilibrios más graves pueden llevar al agotamiento, a arritmias cardíacas e incluso a paros cardíacos. La muerte de algunos deportistas ha sido atribuida a desequilibrios de electrólitos ocasionados por el uso de diuréticos.

Marihuana

La marihuana es otra de las llamadas drogas recreativas. Al igual que el alcohol, puede producir efectos tanto estimulantes como depresores. Actúa principalmente sobre el sistema nervioso central, pero su modo de acción se conoce poco.

Riesgos del uso de la marihuana

Los riesgos para la salud del consumo de marihuana están todavía siendo investigados. Se observan cambios en la personalidad con sólo unos pocos cigarrillos de marihuana. La memoria a corto plazo se deteriora, lo cual hace temer que esta droga puede causar daños permanentes al cerebro. El consumo de grandes cantidades de esta droga puede causar alucinaciones y un comportamiento parecido al psicótico. Las investigaciones con consumidores también han mostrado una disminución en la circulación de los niveles de testosterona. Para más detalles consultar los excelentes trabajos de Wadler y Hainline y Williams.

Otro tema de preocupación es el modo en que se consume. Generalmente se fuma, aunque se puede comer. Las graves consecuencias para la salud asociadas con el consumo de cigarrillos son de general conocimiento. ¿Produce el consumo de marihuana estos mismos problemas? ¿Existen otros problemas para la salud resultantes de la combustión de diferentes sustancias químicas en la marihuana? Estas preguntas no tienen respuesta todavía.

Nicotina

Los deportistas han usado la nicotina como estimulante. La forma más familiar de nicotina son los cigarrillos y desgraciadamente hay pocas personas que no fumen. Pero entre los deportistas las formas que no se fuman —tabaco para masticar (mascar), rapé (aspirar) y tabaco comprimido (apretado)— todavía son populares y su uso parece estar aumentando.

Al igual que con otras drogas recreativas, algunos deportistas recurren a la nicotina por sus posibles efectos ergogénicos, pero muchos son adictos y usan la nicotina diariamente, por lo que sus efectos influyen en su rendimiento deportivo.

Riesgos del uso de la nicotina

La nicotina tiene graves efectos a largo plazo sobre la salud. Esta droga es muy adictiva, razón por la cual muchas personas que primero prueban el tabaco con sus iguales se encuentran unos años más tarde con un grave hábito que resulta difícil de abandonar.

Muchos de los riesgos de la nicotina guardan relación con el método de ingestión. Las formas que no se fuman se sabe que pro-

ducen cánceres de la boca, faringe y laringe, y el fumar está relacionado con varios cánceres, especialmente con el de pulmón. Los fumadores son con frecuencia más susceptibles a las infecciones respiratorias, porque fumar cigarrillos paraliza los flagelos en el tracto respiratorio que barren las partículas materiales alejándolas de los pulmones. Cuando los flagelos se paralizan, esta acción de limpieza se reduce o se detiene y las partículas pueden depositarse en los alvéolos, bloqueándolos o dañándolos. Fumar puede producir también enfisema. El hábito de fumar puede provocar graves cambios cardiovasculares. Eleva los niveles de colesterol en sangre y favorece la aterosclerosis, que puede conducir directamente a un infarto de miocardio o a un accidente vascular cerebral. El riesgo que tiene un fumador de padecer un ataque al corazón es el doble del de un no fumador y un fumar es el principal factor de riesgo para una repentina muerte cardíaca.

Otro efecto es el deterioro de la circulación hacia las extremidades. Fumar es el principal factor que contribuye a las enfermedades vasculares periféricas, en las que los vasos sanguíneos hacia las extremidades se estrechan. La American Heart Association informa que esta enfermedad aparece casi exclusivamente en los fumadores. Esto sitúa a los deportistas que fuman en una posición de mucho mayor riesgo de congelación cuando actúan en ambientes fríos.

BIBLIOGRAFÍA

- BARBANY, J. R. *Alimentación para el deporte y la salud*. Ed. Martínez Roca: Barcelona, 2002.
- BEAN, A. *La guía completa de la nutrición del deportista*. Ed. Paidotribo: Barcelona, 1998.
- BROUNS, F. *Necesidades nutricionales de los atletas*. Ed. Paidotribo. 2ª edición: Barcelona, 1977.
- PUJOL-AMAT, P. *Nutrición, Salud y Rendimiento Deportivo*. Ed. Espaxs, S.A. 2ª edición: Barcelona, 2001.
- VILLEGAS, J. A. «Nutrición y Deporte. Nutrición del Deportista, aspectos propios». *Monográficos de Ciencias del Deporte 1*. Consejería de Presidencia. Dirección General de Deportes de la región de Murcia. 4:102-117. Murcia, 2001.
- VITORIA ORTIZ, M. *La antorcha olímpica, la política y el dopaje en los Juegos Olímpicos de Pekín*. Santander-Conferencia Real Academia de Medicina de Cantabria: 26-VI-2008.
- WILMORE, J. H.; COSTILL, D. *Fisiología del esfuerzo y del ejercicio*. Ed. Paidotribo. 2ª edición: Barcelona, 1999.

INTERVENCIONES

Dr. Guillén García

Muchas gracias por la excelente conferencia. El alma del deporte en la competición no es nunca el entrenamiento, no se puede justificar que tome una droga, pero si lo hace en alto estado de competición como es el alma podría tener alguna justificación que yo no la veo. Yo he visto doping quirúrgico y además lo denuncié, el equipo de natación de EE.UU que está en California, como estos atletas ejercen mucho el movimiento de abducción tiene un desarrollo enorme de la membrana sinovial y aumenta el tamaño de la membrana, pierden fuerza de estímulo y entonces hacía artroscopias y con láser es retraída la cápsula y terminaban teniendo otra cápsula más pequeña, es un doping quirúrgico que se lo asigné y prácticamente ya no lo hacen. Voy a terminar porque es tarde para decirle, el más desagradable que haya tenido del doping porque seguro que lo tiene y luego me lo cuenta y termino diciéndoles que un chico le gritaba al entrenador delante de mi «¿qué quieres que suba el Tourmalet con un yogurt?», aquello me sorprendió mucho, yo no llegaba a entenderlo porque no era español y no le entendía bien, el talento deportivo no aumenta nunca con el doping, ni con el entrenamiento ni con la táctica física ni psicológica, el talento deportivo se tiene o no se tiene. Si tu además eres un gran deportista, pues que bien. Y termino, de los países del este, como él ha mencionado, se traen los países europeos levantadores de peso y un levantador de peso haciendo un levantamiento tuvo una rotura del cuádriceps, se desprendió del polo superior de la rótula aguda, lo llevaron para operar y lo operamos y le dice el médico al chico, que era extranjero, delante de mi: «cuéntale al Doctor, ¿por qué cuando te trajeron contratado a España tu levantabas 250 kilos y desde que has venido aquí ni tu ni ninguno de tus amigos en Francia y en Italia pasa de 230, quieres decirnos qué tomabas allí?, ese es el mundo del deporte de alta competición.

Prof. Rodríguez Rodríguez

Muchas gracias. Felicitarle y una pregunta: ¿es habitual en las sustancias ergogénicas y el que D. Manuel Vitoria Ortiz que conoce

muy bien el ciclismo, el célebre sobre de glucosa que suelen tomar para la última fase de la carrera, la fase explosiva de llegar a meta, eso se puede considerar como una ayuda ergogénica o no?, y en segundo lugar quería hacer una pregunta que es, hasta cierto punto, el problema por llamarlo así, del dopaje de la mala utilización de los niños para los deportes, porque eso si que es un claro delito. Muchas gracias y enhorabuena.

Dr. Valtueña

Con su permiso yo quería pasar, aprovechando la extraordinaria revisión que nos ha hecho el D. Manuel Vitoria, quería pasar de adictismo a la cotidianeidad, entonces con su permiso, debo decir que durante más de un cuarto de siglo yo he sido inspector médico escolar del Estado, entre cuyas misiones una era revisar y firmar el carné de posibilidad, de aptitud para hacer ejercicio físico a los escolares, cuando yo hacía este cargo había cada jueves una cola de niños esperando a que les firmase y de vez en cuando desafortunadamente sucedía, no me pasó a mi nunca porque tenía la curiosidad de mirar en qué colegio había sucedido, sucedía la terrible circunstancia de una muerte súbita en alguno de aquellos niños que habían tenido la firma de otro inspector médico escolar dando la aptitud para hacer ejercicio físico. Y yo me pregunto, ¿existe alguna prueba médica o circunstancia para evitar estas cosas tan tristes de que un adolescente o una niña de 14 años fallezca en estas extrañísimas circunstancias?. Nada más, muchas gracias.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

La conferencia del Dr. Manuel Vitoria, Académico de la Real Academia del País Vasco y además Vicepresidente, al cual le ruego transmita a todos los compañeros un cariñoso saludo de todos nosotros. El Dr. Manuel Vitoria es la segunda vez que viene aquí trayendo y sometiendo a discusión temas valientes y comprometidos. Ha planteado interesantes problemas para la discusión, siempre manejados desde la prudencia. Algunos de ellos tremendos y que han marcado la historia del dopaje en el deporte. Quiero resaltar algo que nos ha indicado, y es concretamente la influencia que ciertos comportamientos relacionados con el dopaje tiene no solamente en niños, en adolescentes y en adultos. Y ello lo es no tan solo por buscar la excelencia en una sociedad cada vez más demandante y cada vez más competitiva, sino también simplemente basándose en el beneficio personal que uno pueda sacar de una mayor satisfacción de hacer mejor un deporte u otro en el día a día.

Creo que el dopaje es un gran drama que tiene hoy día la humanidad, en este caso en el deporte, drama que el Dr. Vitoria conoce bien y está denunciando continuamente. Es la segunda vez que lo denuncia en esta Real Academia, yo le agradezco en nombre de ella que traiga este tema, porque creo que tomamos conciencia de algo que está ocurriendo en la sociedad y que de alguna forma, deberíamos plantearnos hacer un debate más profundo, todavía más valiente si cabe, haciendo las denuncias que sean pertinentes, para que esto en lo posible pueda acabarse.

Muchísimas gracias también a todos también cuantos han intervenido. Se levanta la Sesión.

XI SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 20 DE ABRIL DE 2010

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

**MODULACIÓN DEL SUEÑO REM PRO NEURONAS
NO-GABAÉRGICAS DEL HIPOTÁLAMO
Y PROSENCÉFALO BASAL**

***REM SLEEP MODULATION BY NON-GABAERGIC
NEURONS OF THE HYPOTHALAMUS
AND BASAL FOREBRAIN***

Por el Excmo. Sr. D. FERNANDO REINOSO SUÁREZ

Académico de Número

**BASES NEUROANATÓMICAS DE LA ACCIÓN
DE LAS HIPOCRETINAS EN EL SISTEMA
RETICULAR ASCENDENTE DE ACTIVACIÓN:
SU APORTACIÓN A LA FISIOPATOLOGÍA
DE LA NARCOLEPSIA**

***NEUROANATOMIC BASES OF HYPOCRETIN
ACTIONS ON THE ASCENDING RETICULAR
ACTIVATING SYSTEM: A CONTRIBUTION
TO NARCOLEPSY PHYSIOPATHOLOGY***

Por el Prof. D. MIGUEL GARZÓN GARCÍA

Profesor Titular de Anatomía Humana y Neurociencia
de la Universidad Autónoma de Madrid

**MODULACIÓN DEL SUEÑO REM POR NEURONAS
NO-GABAÉRGICAS DEL HIPOTÁLAMO
Y PROSENCÉFALO BASAL**

***REM SLEEP MODULATION BY NON-GABAERGIC
NEURONS OF THE HYPOTHALAMUS
AND BASAL FOREBRAIN***

Por el Excmo. Sr. D. FERNANDO REINOSO SUÁREZ

Académico de Número

Resumen

La parte ventral del núcleo reticular oral del puente (vRPO) se ha demostrado es el sitio del tronco del encéfalo responsable de la generación y mantenimiento del sueño REM. El vRPO tiene conexiones recíprocas con estructuras que controlan los otros estados del ciclo vigilia-sueño, muchas situadas en el prosencéfalo basal y el diencefalo. El objetivo de la presente revisión es dibujar, usando los resultados descritos en publicaciones anteriores de nuestro grupo, el origen de las proyecciones no-GABAérgicas desde el hipotálamo y el prosencéfalo basal al vRPO, insistiendo en la contribución de las neuronas del hipotálamo positivas a los péptidos hipocretinas/orexinas (H/O). Se describen proyecciones sobre el vRPO: ipsilaterales del núcleo amigdalino central, bilaterales, pero más abundantes en el mismo lado, de los núcleos del lecho de la estría terminal, núcleo preóptico medio, áreas preópticas medial y lateral, abundantes de la zona incerta y de las áreas hipotalámicas dorsal, lateral, posterior y perifornical. Se describen abundantísimas proyecciones bilaterales de las neuronas H/O sobre el vRPO, significativas de la modulación que ejercen estas neuronas sobre ese núcleo. Discuto el significado funcional de estos resultados y los mecanismos correspondientes apoyado en los resultados fisiológicos y ultraestructurales de nuestro grupo. Tomando como base las conexiones y mecanismos de acción de las neuro-

Quiero, en primer lugar, tener un sentido recuerdo y rendir un homenaje de respeto y cariño a nuestro querido amigo y Académico Prof. D. Vicente Moya Pueyo, que falleció la semana pasada, al mismo tiempo que pido por su felicidad eterna.

nas H/O sobre el vRPO, que producen la disminución de la actividad de las neuronas de este núcleo y la inhibición de sueño REM, hago una breve reflexión fisiopatológica sobre la narcolepsia.

Abstract

The ventral part of the oral pontine reticular nucleus (vRPO) is a demonstrated site of brainstem REM-sleep generation and maintenance. The vRPO has reciprocal connections with structures that control other states of the sleep-wakefulness cycle, many situated in the basal forebrain and the diencephalon. The aim of the present revision is to map, using the results described in previous publications of our group, the local origin of the basal forebrain and hypothalamus non-GABAergic projections to the vRPO, and specially the contribution of the hypothalamic neurons positive to hypocretin/orexin (H/O) peptides. I summarize non-GABAergic projections to the vRPO from the: ipsilateral central amygdaline nucleus and the stria terminalis bed nuclei, bilateral projections, but most abundant in the ipsilateral side, from the median preoptic nucleus, medial and lateral preoptic areas, abundant from the zona incerta and dorsal, lateral, posterior and perifornical hypothalamic areas. Very abundant bilateral projections of H/O neurons to the vRPO are described, expressive of the important modulation exerted by these neurons on the vRPO nucleus. I discuss the functional significance of the above results and the corresponding mechanisms, supported by physiological and ultrastructural results of our group. Based on the connections and action mechanisms of H/O neurons on the vRPO, which produce the decreased activity of neurons in this nucleus and, therefore, inhibition of REM sleep, I reflect briefly on narcolepsy pathophysiology.

La parte ventral del núcleo reticular oral del puente (vRPO) es el sitio del tronco del encéfalo en el gato cuya lesión produce como única modificación significativa en el ciclo vigilia sueño una disminución del sueño de movimientos oculares rápidos (sueño REM) y en el que la microinyección de una pequeña cantidad y una baja dosis de una solución del agonista colinérgico carbacol produce con corta latencia un prolongado sueño REM (Gutiérrez-Rivas et al., 1978; Reinoso-Suárez et al., 1990, 1994, 2001; Garzón et al., 1997, 1998). El vRPO tiene conexiones recíprocas con las estructuras responsables del control de los otros estados del ciclo vigilia-sueño: vigilia y sueños no-REM; estas estructuras están a su vez conectadas entre ellas. Los impulsos excitadores e inhibidores procedentes de las estructuras responsables de las diferentes fases del CV-S, todo ello regido por el marcapasos circadiano (núcleo supraquiasmático),

son esenciales en determinar la fase del ciclo que exprese el individuo (Reinoso-Suárez et al, 2001). El vRPO tiene también conexiones recíprocas con todos los subsistemas responsables de los signos que caracterizan el sueño REM: atonía, ondas ponto-genículo-occipitales, activación del electroencefalograma y generación de los movimientos oculares rápidos; siendo, a su vez, el sitio de la generación de ritmo theta, una manifestación asociada al sueño REM (Reinoso-Suárez et al., 2001). Por todo ello se ha considerado al vRPO como el director de la orquesta neuronal responsable de la generación y mantenimiento del sueño REM (Reinoso-Suárez, 1998). El vRPO está también conectado con numerosas estructuras cerebrales corticales y subcorticales, del tronco del encéfalo, del cerebelo y de la médula espinal, todas las cuales contribuyen a modular la actividad de este núcleo, ya que el equilibrio entre las acciones excitadoras e inhibitoras de los diferentes neurotransmisores con origen en estructuras que proyectan al vRPO deben ser la causa final de la generación del sueño REM (Reinoso-Suárez, 2007).

Ante estos hechos ha adquirido una importancia especial conocer de qué manera modulan el sueño REM las estructuras vigilántigenas e hipnogénicas situadas en hipotálamo y prosencéfalo basal (Rodrigo-Angulo et al., 2006, 2008; Reinoso Suárez, 2007). Nuestro grupo ha estudiado la inervación GABAérgica del vRPO (De la Roza y Reinoso-Suárez, 2006, 2008; Reinoso et al., 2010) insistiendo en la inervación procedente del diencefalo y prosencéfalo basal (de la Roza et al., 2004; Rodrigo-Angulo et al., 2006, 2008; Reinoso-Suárez, 2007; Reinoso-Suárez et al., 2010). Hoy quiero insistir en la modulación que ejercen sobre el sueño REM, de una forma directa a través de sus proyecciones sobre vRPO, estructura nodal de la red neuronal responsable de la generación y mantenimiento del sueño REM, las neuronas no-GABAérgicas del hipotálamo y prosencéfalo basal, así como los mecanismos en ellas implicados, tomando como base trabajos del Grupo de Sueño del Departamento de Anatomía, Histología y Neurociencia de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

Para ello dividiré el trabajo en los siguientes apartados:

1. Situación y anatomía funcional de neuronas no-GABAérgicas del hipotálamo y prosencéfalo basal que proyectan al vRPO.
2. Neuronas hipocretinérgicas/orexinérgicas (H/O) que proyectan al vRPO.

- 2-1. ¿Cuántas neuronas H/O proyectan al vRPO y donde están situadas?
- 2-2. ¿Qué acción ejercen sobre el vRPO?
- 2-3. ¿Qué mecanismos utilizan para modular el sueño REM?
- 2-4. Una reflexión fisiopatológica.

1. Situación y anatomía funcional de neuronas no-GABAérgicas del hipotálamo y prosencéfalo basal que proyectan al vRPO

Han sido estudiadas por Rodrigo-Angulo et al. (2006, 2008). Se ha utilizado, en cinco gatos adultos, una técnica de doble marcaje combinando inyecciones del trazador neuronal, cólera-toxina B (C-TB), en vRPO con inmunohistoquímica para decarboxilasa del ácido glutámico (GAD) como marcador de las neuronas GABAérgicas. En mi intervención de hace tres años me referí a las neuronas GABAérgicas, las doblemente marcadas por C-TB y GAD, que proyectan a vRPO (Reinoso-Suárez, 2007). Hoy me voy a referir a las simplemente marcadas con C-TB, es decir a las neuronas no-GABAérgicas que desde hipotálamo y prosencéfalo basal proyectan a vRPO, y por tanto tienen capacidad para modular el sueño REM.

Las neuronas C-TB positivas se encuentran abundantemente repartidas en estructuras del prosencéfalo basal y del hipotálamo del mismo lado y del lado opuesto a la microinyección en vRPO (Rodrigo-Angulo et al., 2008).

En prosencéfalo basal se encontraron neuronas C-TB positivas, algunas en el área amigdalina anterior y abundantes en el núcleo central de la amígdala ipsilaterales a la inyección. Se encuentran en cantidades diferentes de forma bilateral en el resto de núcleos del prosencéfalo basal. Las neuronas marcadas llenan el núcleo preóptico medio, son también abundantes en los núcleos medial y lateral del lecho de la estría terminal y áreas preópticas medial y lateral ipsilaterales (fig. 1).

Se ha descrito una participación del núcleo central de la amígdala en la regulación del sueño REM, ya que las neuronas del núcleo central de la amígdala descargan durante el sueño REM, su estimulación eléctrica aumenta el sueño REM y la inhibición química del núcleo disminuye el sueño REM (Sanford et al., 2002, 2006; Boissard et al., 2003). De acuerdo con nuestros resultados esta regulación la puede ejercer la amígdala directamente o a través de los

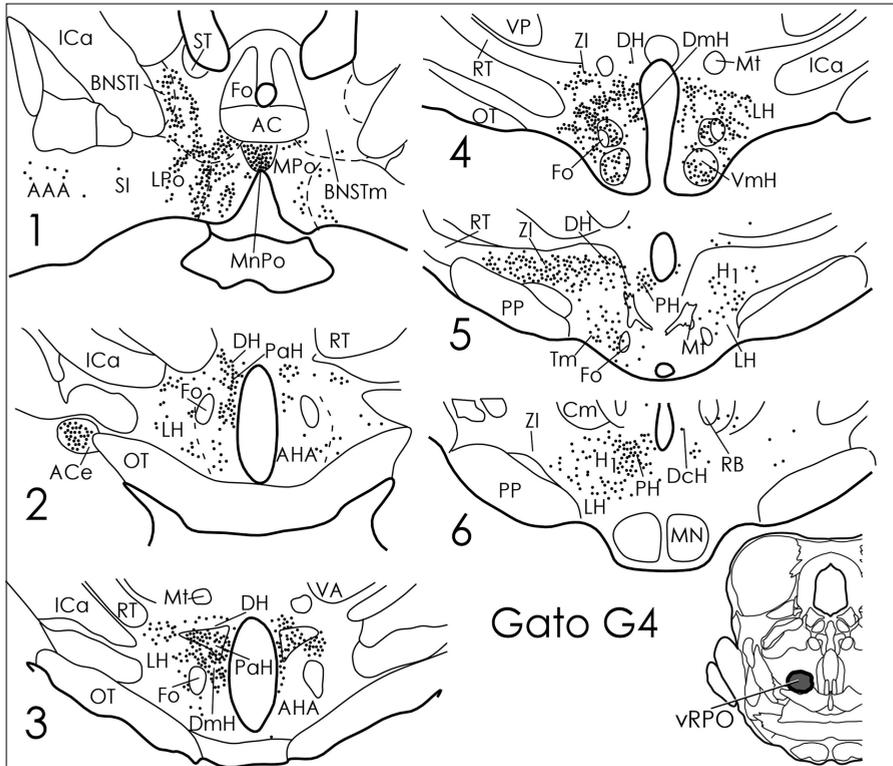


FIGURA 1. Esquema de secciones coronales del prosencéfalo basal e hipotálamo, desde rostral (1) a caudal (6), mostrando la distribución de las neuronas no-GABAérgicas que proyectan a la parte ventral del núcleo reticular oral del puente (vRPO), en el caso G4. Abajo a la derecha: esquema de un corte coronal a nivel del puente oral mostrando la microinyección de C-TB en vRPO en este caso. AAA, área amigdalina anterior; AC, comisura anterior; ACe, núcleo amigdalino central; AHA, área hipotalámica anterior; BNSTl: parte lateral del núcleo del lecho de la estria terminal; BNSTm, parte medial del núcleo del lecho de la estria terminal; Cm: núcleo talámico centromediano; Dch, núcleo hipotalámico dorsocaudal; DH, área hipotalámica dorsal; DM, núcleo talámico dorsomedial; DmH, núcleo hipotalámico dorsomedial; Fo, fornix; H1, H1 área de Forel; ICa, cápsula interna; LH, área hipotalámica lateral; LPo, área preóptica lateral; MN, núcleo mamilar; MnPo, núcleo preóptico medio; MPO, área preóptica medial; Mt, tracto mamilotalámico; OT, tracto óptico; PaH, núcleo hipotalámico paraventricular; PH, área hipotalámica posterior; PP, plé peduncular; RB, fascículo retroflejo; RT, núcleo talámico reticular; SI, sustancia innominada; ST, estria terminal; Tm: núcleo tuberomamilar; VA, núcleo talámico ventral anterior; VmH, núcleo hipotalámico ventromedial; VP, núcleo talámico ventral posterior; ZI, zona incerta. Modificada de Rodrigo-Angulo et al. (2008).

núcleos del lecho de la estria terminal. La proyección no-GABAérgica descrita por Rodrigo-Angulo et al. (2008) desde el núcleo preóptico medio al vRPO es coherente con la descripción de Gvilia et al.

(2006) en la rata de que el aumento de la presión de sueño REM activa las neuronas no-GABAérgicas de este núcleo; neuronas que seguramente utilizando glutamato como neurotransmisor ejercen un efecto excitador sobre las neuronas generadoras de sueño REM del vRPO, de la misma manera pueden ejercer esta acción las pocas neuronas marcadas en el área preóptica lateral ventral. La abundante proyección al vRPO desde el área preóptica medial puede ser el sustrato anatómico a través del cual este área mantiene la frecuencia de los episodios de sueño REM (Srividya et al., 2006; Rodrigo-Angulo et al., 2008).

La mayor parte de las neuronas que *desde zona incerta*, principalmente ipsilaterales, proyectan a vRPO son no-GABAérgicas (Fig. 1). Igualmente *en hipotálamo* las proyecciones no-GABAérgicas a vRPO son abundantes y bilaterales, y se originan esencialmente en las áreas hipotalámicas dorsal, lateral, posterior y perifornical y en los núcleos hipotalámicos periventricular, dorsomedial y ventromedial y en menor medida en el área hipotalámica anterior, área H₁ de Forel y núcleo tuberomamilar (fig. 1) (Rodrigo-Angulo et al., 2008). Representan al mayor número de las neuronas que habían descrito Reinoso-Suárez et al. (1994) que proyectan en el gato al vRPO desde estas estructuras.

Hoy conocemos que la actividad de las neuronas de vRPO está significativamente controlada por terminales inhibitorias GABAérgicas y serotoninérgicas, bien de interneuronas situadas en el propio vRPO o de neuronas situadas fuera del núcleo (fig. 2: 2, 2b y 3). Las aferentes GABAérgicas que se originan esencialmente en estructuras diencefálicas relacionadas con la organización de la vigilia o el sueño no-REM pueden inhibir directamente a través de sus sinapsis simétricas las neuronas REM-on del vRPO (fig. 2: 3); o bien inhibir las terminales que forman sinapsis asimétrica que excitan estas neuronas REM-on, durante otras fases del ciclo vigilia-sueño (fig. 2: 3a, 3b y 3d) (De la Roza y Reinoso-Suárez, 2006, 2009; Rodrigo-Angulo et al., 2008; Reinoso-Suárez, 2008; Reinoso-Suárez et al., 2010). También forman sinapsis simétricas con neuronas del vRPO un 37% de las terminales hipotalámicas no-GABAérgicas de las que algunas pueden tener su origen en aquellas neuronas hipotalámicas y de la zona incerta que son más activas durante la vigilia o el sueño no-REM (Koyama et al., 2003; De la Roza et al., 2004); suelen inhibir directamente las neuronas REM-on del vRPO durante estas fases del ciclo vigilia-sueño (fig. 2: 4a) (Reinoso-Suárez et al., 2010). Parte de

las neuronas no-GABAérgicas que proyectan al vRPO pueden representar a aquellas neuronas hipotalámicas y de la zona incerta que están activas durante el sueño REM (Koyama et al., 2003) o que expresan Fos durante el rebote de sueño REM después de la privación del mismo (Verret et al., 2003); en ambos casos sus terminales excitarán a las neuronas generadoras de sueño REM en el vRPO (Rodrigo-Angulo et al., 2008). Ellas pueden ser algunas del 37% de las neuronas hipotalámicas, no GABAérgicas, que proyectan a vRPO que forman sinapsis asimétricas con las neuronas REM-on de este núcleo (fig. 2: 1) (De la Roza et al., 2004; De la Roza y Reinoso-Suárez, 2006, 2009). Las neuronas hipotalámicas y del prosencéfalo basal que utilizan neurotransmisores excitadores, que forman sinapsis asimétricas en vRPO, y que suelen estar activas en las fases de sueño no-REM y de vigilia (como ocurre a las neuronas hipocretinérgicas), que pueden inhibir el sueño REM, suelen hacer sinapsis en las

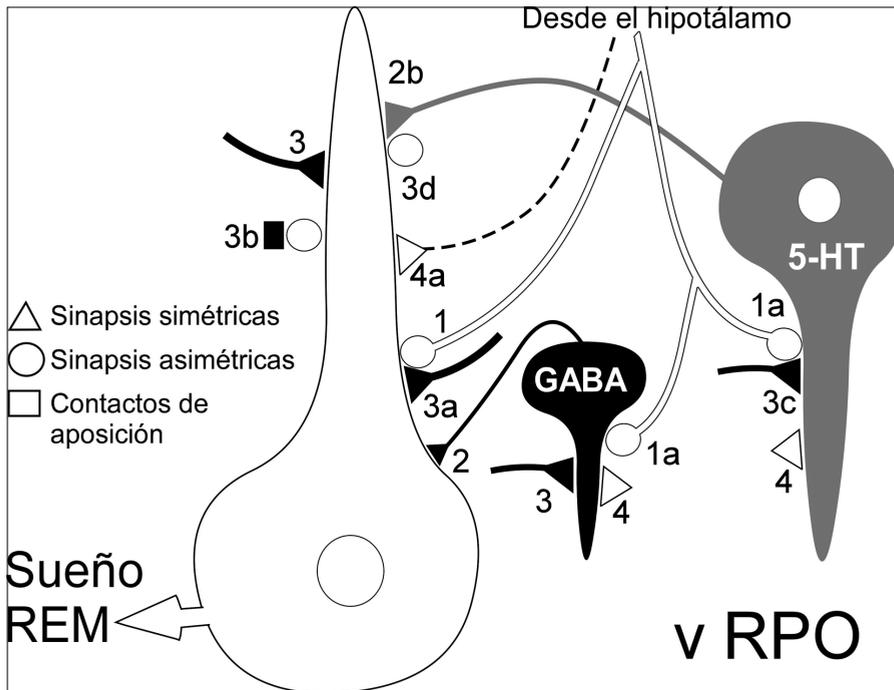


FIGURA 2. Representación esquemática de neuronas y terminales en el vRPO. En negro formaciones GABAérgicas, en gris serotoninérgicas y en blanco que utilizan otros neurotransmisores. Modificada de Reinoso-Suárez et al. (2010) y realizada con datos de De la Roza y Reinoso-Suárez (2006 y 2009).

neuronas GABAérgicas y serotoninérgicas del vRPO, e inhiben las neuronas REM-on a través de aumentar la eficacia de la proyección inhibitoria de estas neuronas GABAérgicas y serotoninérgicas sobre las neuronas generadoras de sueño REM (fig. 2: 1a, 2 y 2b) (De la Roza y Reinoso-Suárez, 2006, 2009; Reinoso-Suárez et al., 2010).

2. Neuronas hipocretinérgicas/orexinérgicas (H/O) que proyectan al vRPO

En el hipotálamo además de las neuronas GABAérgicas se encuentran otros tipos de neuronas caracterizadas bioquímicamente entre las que mejor estudiadas están las neuronas que poseen como neurotransmisores la histamina, la galanina, el glutamato, la hormona concentradora de melanina, habiendo adquirido una importancia especial las neuronas que poseen dos neuropéptidos excitadores las hipocretinas (Hcrt-1 y Hcrt-2), también llamados orexinas (Orx-A y Orx-B).

Las neuronas hipocretinérgicas/orexinérgicas (H/O), ampliamente distribuidas en el hipotálamo (principalmente en las áreas hipotalámicas posterior, dorsal, lateral y perifornical), y sólo en el hipotálamo y zona incerta, además de otras muchas funciones (como control de la ingesta, la termorregulación, respuesta al stress y de los sistemas cardiovascular y endocrino), tienen un lugar destacado en la integración y estabilización de las redes neuronales responsables de la vigilia y en la fisiopatología de la narcolepsia/cataplexia, habiéndoseles atribuido funciones tanto en iniciar la transición de sueño a vigilia como en mantener un constante nivel de vigilia durante el día (Reinoso-Suárez et al., 2011).

Todas las terminales de los axones de las neuronas H/O forman sinapsis asimétricas (y por tanto habitualmente excitadoras) con las dendritas y somas de las neuronas diana. Sus órganos diana son la mayor parte de las estructuras del sistema nervioso central, desde la corteza cerebral a la médula espinal, con la excepción del cerebelo. Especialmente sus conexiones son abundantes y recíprocas con los componentes de la red neuronal responsable de la vigilia, como son las estructuras vigiliántigenas del prosencéfalo basal y las del tegmento ponto-mesencefálico dorsal (fig. 3); sus conexiones son individualmente diferenciadas con cada tipo neuronal, llamando la atención la estrecha conexión con las neuronas histaminérgicas del núcleo tube-

romamilar hipotalámico que ha llevado algunos autores a afirmar que el efecto despertador de las H/O depende de la activación de la neurotransmisión histaminérgica (véase Reinoso-Suárez et al., 2011 para una revisión). Si bien las neuronas H/O hipotalámicas pueden coordinar la activación de todo el sistema reticular ascendente de activación responsable de la vigilia modula también, inhibiendo su actividad, las otras fases del ciclo vigilia sueño: sueño no-REM y sueño REM, para lo que están conectadas con las estructuras responsables de estas fases del ciclo vigilia-sueño (fig. 3).

Uno de los motivos de mi intervención es conocer la anatomía funcional de las conexiones de las neuronas H/O hipotalámicas con el vRPO, estructura responsable de la generación y mantenimiento del sueño REM.

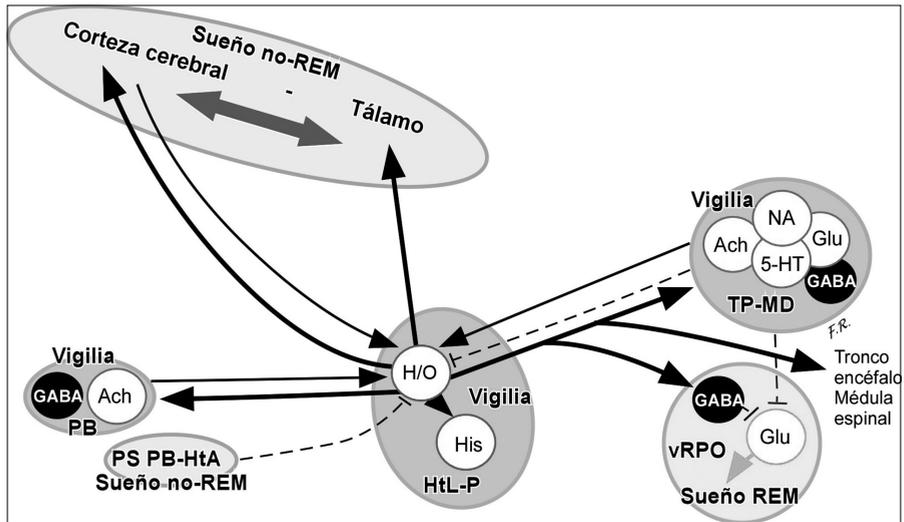


FIGURA 3. Dibujo esquema de la red neuronal responsable de generar y mantener la vigilia. 5-HT, neuronas serotoninérgicas; Ach, neuronas colinérgicas; GABA, neuronas GABAérgicas; Glu, neuronas glutamatérgicas; H/O, neuronas hipocretinérgicas; His, neuronas histaminérgicas; HtL-P, hipotálamo lateral-posterior; NA, neuronas noradrenérgicas; PB, prosencéfalo basal; PS PB-HtA, área promotora de sueño del prosencéfalo basal-hipotálamo anterior; vRPO, parte ventral del núcleo reticular oral del puente; TP-MD, tegmento ponto-mesencefálico dorsal. Las flechas y los guiones representan respectivamente conexiones excitadoras e inhibitorias. Modificada de Reinoso-Suárez et al. (2011)

2-1. *¿Cuántas neuronas H/O positivas proyectan al vRPO y donde están situadas?*

Miguel Garzón (comunicación personal) ha confirmado que todas las sinapsis que forman las terminales H/O en el vRPO son asimétricas, por lo tanto excitadoras. En un reciente estudio con técnica de doble marcaje de García-García et al. (2010) han combinado inyecciones del trazador neuronal toxina-colérica B (C-TB) con inmunocitoquímica para hipocretina 1 en cuatro gatos adultos. En el estudio del material resultante han encontrado un gran número de neuronas doblemente marcadas (C-TB + H/O), un elevado tanto por ciento del total de neuronas H/O, que están ampliamente distribuidas bilateralmente en el hipotálamo, entremezcladas con neuronas sólo C-TB positivas y H/O positivas. El mayor número de neuronas doblemente marcadas, referidas al número total de neuronas marcadas (simples y dobles) se sitúan en el área hipotalámica posterior (67,7%), le sigue el área hipotalámica lateral (41,0%), el área perifornical (36,4%), el área hipotalámica anterior (34,1%) y el área hipotalámica dorsal (20,1%); el porcentaje de neuronas doblemente marcadas encontradas en otros núcleos hipotalámicos tales como el paraventricular, dorsomedial o el ventromedial no llegan al 20%. Llama la atención esta extensa y compleja inervación bilateral de las neuronas H/O del vRPO. Parece como si el hipotálamo promotor y mantenedor del estado de vigilia quisiera asegurarse tener controlada la estructura generadora de sueño REM mientras el individuo está en vigilia.

También en la rata Núñez et al. (2008) describieron una consistente inervación H/O hipotalámica de la estructura troncoencefálica equivalente al vRPO. Estos autores describen que la estimulación eléctrica de la región hipotalámica donde se encuentran el mayor número de neuronas H/O positivas en la rata, el área perifornical, produce respuestas ortodrómicas en los dos tipos de neuronas caracterizadas electrofisiológicamente en el vRPO tanto en el tipo I (49%) y tipo II (58%), con una latencia media respectivamente de $13,0 \pm 2$ y $8,3 \pm 5$ ms. En seis casos se han obtenido respuestas antidrómicas en las neuronas tipo I del vRPO del lado estimulado con una latencia media de $3,2 \pm 0,4$ ms, que demuestran la proyección de las neuronas del vRPO sobre el hipotálamo ipsilateral, confirmando resultados anatómicos anteriores en el gato (Reinoso-Suárez et al., 1994).

2-2. *¿Qué acción ejercen las H/O sobre el vRPO?*

En nuestro laboratorio se han hecho dos tipos de experimentos:

- 1) En la rata la aplicación de hipocretina-1 en vRPO, a través de una micropipeta unida al electrodo de registro, produce una disminución de la velocidad de descarga de las neuronas del vRPO, principalmente de las neuronas tipo II, indicativas de la inhibición de la H/O de estas neuronas (Núñez et al., 2006).
- 2) En cinco gatos adultos libres se ha inyectado en vRPO un pequeño volumen (20-30 nl) de una solución de hipocretina-1 en diferentes concentraciones (100, 500 y 1000 mM). Con todas las concentraciones se ha producido una disminución significativa del sueño REM sin un cambio significativo en los otros estados del ciclo vigilia-sueño: vigilia y sueño no-REM (Moreno-Balandrán et al., 2008).

2-3. *¿Qué mecanismos utilizan las H/O para modular el sueño REM?*

En el mismo experimento en la rata descrito en 2-2, 1), si a la aplicación iontoforética de hipocretina-1 a través de una micropipeta precede la aplicación también iontoforética del antagonista de los receptores GABA_A bicuculina se bloquea la disminución de la velocidad de descarga de las neuronas del vRPO, lo que indica que la acción inhibitoria de la hipocretina-1 es debida a la activación de receptores GABA_A. Los autores concluyen que el efecto inhibitor de hipocretina-1 en el vRPO puede ser debido a la acción excitadora de la H/O sobre las interneuronas GABAérgicas del núcleo vRPO o a un aumento de la liberación de GABA de las terminales aferentes GABAérgicas, en ambos casos a través de la activación de receptores GABA_A (Núñez et al., 2006). Hallazgo que es coherente con el hecho de que la inyección de bicuculina en el área de vRPO en el gato normal produce un aumento del sueño REM (véase Reinoso-Suárez et al., [2010] para una revisión de este tema).

Moreno-Balandrán et al. (2008) proponen un mecanismo GABAérgico similar para explicar la supresión significativa del sueño REM después de la microinyección de hipocretina-1 en el vRPO de gatos adultos que se mueven libremente (fig. 4).

Se ha demostrado que las neuronas y terminales GABAérgicas y serotoninérgicas del vRPO pueden cambiar el efecto de excitación pro-

cedente de otras estructuras cerebrales en un efecto inhibitorio sobre las neuronas REM «on» del vRPO (figs. 2: 3 y 4) (De la Roza y Reinoso-Suárez, 2009; Reinoso-Suárez et al., 2010). Por ejemplo, Rodrigo-Angulo et al. (2008) han demostrado que el prosencéfalo basal y estructuras diencefálicas estrechamente relacionado con el sueño no-REM y la vigilia envían abundantes proyecciones no-GABAérgicas, tal vez utilizando neurotransmisores excitadores o inhibidores, al vRPO. Los autores suponen que algunos de estos, principalmente los originarios en el hipotálamo lateral-posterior (De la Roza et al., 2004) pueden inhibir las neuronas REM «on» del vRPO, especialmente durante el período de vigilia del ciclo sueño-vigilia, ya sea directamente a través de las sinapsis simétricas (fig. 2: 4a), o indirectamente a través de la activación de las neuronas locales GABAérgicas o serotoninérgicas del vRPO (fig. 2: 1a), como se ha propuesto que se pro-

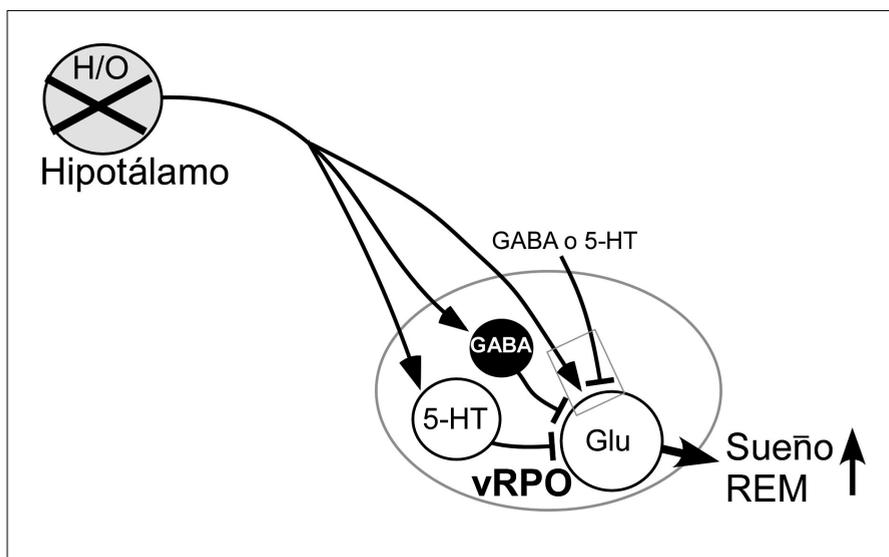


FIGURA 4. Esquema representativo de la acción inhibitoria de las neuronas hipocretinérgicas (H/O) del hipotálamo sobre las neuronas generadoras glutamatérgicas (Glu) de sueño REM situadas en la parte ventral del núcleo reticular oral del puente (vRPO). Para ello las terminales de las neuronas H/O excitan interneuronas GABAérgicas (GABA) y/o serotoninérgicas (5-HT) del vRPO o excitan presinápticamente terminales inhibitorias GABA o 5-HT que hacen sinapsis en el las neuronas generadoras de sueño REM. Las flechas y los guiones representan respectivamente conexiones excitadoras e inhibitorias. Modificado de Balandrán et al. (2008). La lesión de las neuronas H/O (aspa [X] en H/O), como ocurre en la narcolepsia, hace desaparecer esa inhibición y puede aparecer el sueño REM, incluso bruscamente, en el período de vigilia, como lo expresa el grosor de las flechas de abajo a la derecha del dibujo.

duzca con las neuronas de hipocretina del hipotálamo lateral-posterior de la rata (Núñez et al., 2006). En realidad, hipocretina-1 produce, como hemos visto, una inhibición mediada por GABA en las neuronas del vRPO. La proyección de la hipocretina al vRPO puede ser parte de las fibras de origen en el hipotálamo posterolateral asimétrica que hacen sinapsis excitadoras con diferentes tipos de neuronas del vRPO (De la Roza et al., 2004]; estas fibras pueden activar células GABAérgicas y serotoninérgicas inhibitorias del vRPO y, en consecuencia podría generar procesos inhibitorios postsinápticos en el vRPO (fig. 2: 1a) (De la Roza y Reinoso-Suárez, 2009; Reinoso-Suárez et al., 2010). Sin embargo, alguna inhibición de las neuronas vRPO también probablemente se deba a la liberación pre-sináptica de GABA de las terminales GABAérgicas en aposición a una terminal asimétrica hipocretinérgica en el mismo segmento dendrítico de la neurona de vRPO (fig. 2: 3a, 3b) (De la Roza et al., 2004; De la Roza y Reinoso Suárez, 2006, 2009; Moreno-Balandran et al., 2008). Este mecanismo es similar al que se había propuesto para la activación por la hipocretina de los terminales GABAérgicos en el núcleo tuberomamilar (Eriksson et al., 2004). En consecuencia, podemos proponer que la hipocretina-1 da lugar a un aumento de la secreción de GABA en el vRPO, como se ha demostrado por la observación de que la administración de diálisis de hipocretina-1 en el tegmento pontino oral de las ratas produce un aumento estadísticamente significativo de los niveles de GABA en esta región, dependiente de la concentración de hipocretina (Watson et al., 2008).

2-4. *Una reflexión fisiopatológica*

De acuerdo con nuestros resultados la acción de las neuronas H/O sobre el vRPO produce una supresión de la generación y mantenimiento del sueño REM; al perderse en los narcolépticos los impulsos nerviosos procedentes de las neuronas H/O, desaparece esta acción. Tal fenómeno significaría que en estos pacientes durante la vigilia la defacilitación/inhibición del sueño REM en el vRPO estaría ausente, explicando por qué los narcolépticos pueden caer directamente en sueño REM mientras están en un periodo de vigilia (fig. 4) (Moreno-Balandran et al., 2008).

Es verdad, como veremos en la intervención del profesor Garzón, que las H/O actuando sobre otras estructuras troncoencefálicas, excita y aumentan directamente la vigilia y, posiblemente de forma

indirecta, suprimen el sueño no-REM y defacilitan el sueño REM (Moreno-Balandrán et al., 2008). La supresión de todas estas acciones agrava la sintomatología señalada de aparición del sueño REM durante un periodo de vigilia y explica otras manifestaciones de la narcolepsia/cataplexia.

Todo esto sugiere que la narcolepsia sea la consecuencia directa de una hipofunción del sistema de las H/O y que es muy probablemente debido a la degeneración de las neuronas H/O o, entre otros que se han propuesto, a trastornos en sus receptores.

Agradecimientos

Agradezco su colaboración a todos los componentes del «Grupo de Sueño» del Departamento de Anatomía, Histología y Neurociencia de la UAM. Trabajo hecho con las ayudas de investigación números: PB98-0097, BFI2002-01314, BFU2006-07430 and BFU2009-06991/BFI.

BIBLIOGRAFÍA

- BOISSARD, R.; FORT, P.; GERVASONI, D.; BARBAGLI, B.; LUPPI, PH. (2003). «Localization of the GABAergic and non-GABAergic neurons projecting to the sublaterodorsal nucleus and potentially gating paradoxical sleep onset». *Eur. J. Neurosci*, 18:1627-1639.
- DE LA ROZA, C.; MARTÍNEZ-MENA, J.; SÁNCHEZ-VALLE, M. E.; REINOSO-SUÁREZ, F. (2004). «Projections from the cat posterior lateral hypothalamus to the ventral part of the oral pontine reticular nucleus contain a GABAergic component». *Brain Res*, 1020:118-129.
- DE LA ROZA, C.; REINOSO-SUÁREZ, F. (2006). «Gabaergic structures in the ventral part of the oral pontine reticular nucleus: An ultrastructural immunogold analysis». *Neuroscience*, 142:1183-1193.
- DE LA ROZA, C.; REINOSO-SUÁREZ, F. (2009). «Ultrastructural characterization of relationship between serotonergic and GABAergic structures in the ventral part of the oral pontine reticular nucleus». *Neuroscience*, 164:1180-1190.
- ERIKSSON, K. S.; SERGEEVA, O. A.; SELBACH, O.; HAAS, H. L. (2004). «Orexin (hypo-cretin)/dynorphin neurons control GABAergic inputs to tubero-mammillary neurons». *Eur. J. Neurosci*, 19:1278-84.
- GARCÍA-GARCÍA, B.; REINOSO-SUÁREZ, F.; RODRIGO-ANGULO, M. L. (2010). «Quantitative analysis of the hypothalamic hypocretinergic/orexinergic projection to the ventral oral pontine REM sleep generation site in the cat». *J. Sleep Res.*, 19 suppl. 2, pp. 191-192.
- GARZÓN, M.; DE ANDRÉS, I.; REINOSO-SUÁREZ, F. (1997). «Neocortical and hippocampal electrical activities are similar in spontaneous and cholinergic induced REM sleep». *Brain Res.*, 766:266-270.

- GARZÓN, M.; DE ANDRÉS, I.; REINOSO-SUÁREZ, F. (1998). «Sleep patterns after carbachol delivery in the ventral oral pontine tegmentum of the cat». *Neuroscience*, 83:1137-1144.
- GUTIÉRREZ-RIVAS, E.; DE ANDRÉS, I.; GÓMEZ-MONTOYA, J.; REINOSO-SUÁREZ, F. (1978). «The influence of the rostromedial-ventrolateral region on the sleep-wakefulness cycle». *Experientia*, 34:61-62.
- GVILIA, I.; TURNER, A.; MCGINTY, D.; SZYMUSIAK, R. (2006). «Preoptic area neurons and the homeostatic regulation of rapid eye movement sleep». *J. Neurosci*, 26:3037-3044.
- KOYAMA, Y.; TAKAHASHI, K.; KODAMA, T.; KAYAMA, Y. (2003). «State-dependent activity of neurons in the perifornical hypothalamic area during sleep and waking». *Neuroscience*, 119:1209-1219.
- MORENO-BALANDRAN, E.; GARZÓN, M.; BÓDALO, C.; REINOSO-SUÁREZ, F.; DE ANDRÉS, I. (2008). «Sleep-wakefulness effects after microinjections of hypocretin 1 (orexin A) in cholinceptive areas of the cat oral pontine tegmentum». *Eur. J. Neurosci*, 28:331-341.
- NÚÑEZ, A.; MORENO-BALADRÁN, M. E.; RODRIGO-ANGULO, M. L.; GARZÓN, M.; DE ANDRÉS, I. (2006). «Relationship between the perifornical hypothalamic area and oral pontine reticular nucleus in the rat. Possible implication of the hypocretinergic projection in the control of rapid eye movement sleep». *Eur. J. Neurosci*, 24:2834-2842.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1998). «Identificación del director de la orquesta neuronal responsable del sueño paradójico». *An. R. Acad. Nac. Med. (Madr)*, 115: 239-259.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (2007). «Modulación por el ácido γ -aminobutírico (GABA) del sueño de movimientos oculares rápidos (REM)». *An. R. Acad. Nac. Med. (Madr)*, 124:397-413.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; DE ANDRÉS, I.; GARZÓN, M. (2011). *Functional Anatomy of the Sleep-Wakefulness cycle: Wakefulness*. *Adv. Anat. Embriol. Cell Biol.*, vol. 208, Springer Germany.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; DE ANDRÉS, I.; RODRIGO-ANGULO, M. L.; GARZÓN, M. (2001). «Brain structures and mechanisms involved in the generation of REM sleep». *Sleep Med. Rev.*, 5:63-77.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; DE ANDRÉS, I.; RODRIGO-ANGULO, M. L.; RODRÍGUEZ-VEIGA, E. (1994). «Location and anatomical connections of a paradoxical sleep induction site in the cat ventral pontine tegmentum». *Eur. J. Neurosci*, 6:1829-1836.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; DE LA ROZA, C.; RODRIGO-ANGULO, M. L.; DE ANDRÉS, I.; NÚÑEZ, A.; GARZÓN, M. (2010). «GABAergic mechanisms in the ventral oral pontine tegmentum—the REM sleep induction site—in the modulation of sleep-wake states». In: *GABA and Sleep*, J.M. Monti, S.R. Pandi-Perumal and H. Möhler eds. Springer, Basel, pp. 233-252.
- RODRIGO-ANGULO, M. L.; HEREDERO, S.; RODRÍGUEZ-VEIGA, E.; REINOSO-SUÁREZ, F. (2006). «Thalamic and hypothalamic GABAergic projections to the cat brainstem REM-sleep induction area». *Eur. J. Neurosci*, Praga.
- RODRIGO-ANGULO, M. L.; HEREDERO, S.; RODRÍGUEZ-VEIGA, E.; REINOSO-SUÁREZ, F. (2008). «GABAergic and non-GABAergic thalamic, hypothalamic and basal forebrain projections to the ventral oral pontine reticular nucleus: their implication in REM sleep modulation». *Brain Res.*, 1210:116-125.

- SANFORD, L. D.; PARRIS, B.; TANG, X. (2002). «GABAergic regulation of the central nucleus of the amygdala: implications for sleep control». *Brain Res.*, 956:276-284.
- SANFORD, L. D.; YANG, L.; TANG, X.; DONG, E.; ROSS, R. J.; MORRISON, A. R. (2006). «Cholinergic regulation of the central nucleus of the amygdala in rats: Effects of local microinjections of cholinomimetics and cholinergic antagonists on arousal and sleep». *Neuroscience*, 141:2167-2176.
- SRIVIDYA, R.; MALLICK, B. N.; KUMAR, V. M. (2006). «Differences in the effects of medial and lateral preoptic lesions on thermoregulation and sleep in rats». *Neuroscience*, 139:853-864.
- VERRET, L.; GOUTAGNY, R.; FORT, P.; CAGNON, L.; SALVERT, D.; LEGGER, L.; BOISSARD, R.; SALIN, P.; PEYRON, C.; LUPPI, PH. (2003). «A role of melanin-concentrating hormone producing neurons in the central regulation of paradoxical sleep». *BMC Neurosci*, 4:19.
- WATSON, CH. J.; SOTO-CALDERÓN, H.; LYDIC, R.; BAGHDOYAN, H. A. (2008). «Pontine reticular formation (PnO) administration of hypocretin-1 increases PnO GABA levels and wakefulness». *Sleep*, 31:453-464.

INTERVENCIONES

Prof. Segovia de Arana

Le felicito a nuestro compañero por esta exposición realmente magnífica de un tema tan complicado, tan complejo, tan enigmático como es el sueño. Mi pregunta es: ¿el ensueño es sólo propio de la fase REM o puede haber ensueños en las otras fases del sueño?, y segundo: ¿Cuándo el ensueño tiene una característica positiva o negativa, agradable o desagradable, está influido también neuroquímicamente por la secreción de sustancias o por la participación de los núcleos que con tanta minuciosidad nos has manifestado?

Prof. García Sagredo

Yo también me quiero sumar a la felicitación porque ha sido una lección magnífica, de anatomía, de neurofisiología y realmente he aprendido mucho, he aprendido tanto como que se me han empezado a aclarar un poco las ideas sobre un síndrome genético, un síndrome que es raro por la frecuencia, pero que de vez en cuando vemos, que es el síndrome de Prader Willi. El síndrome de Prader Willi es un síndrome de genes contiguos y que en un 70% está producido por una delección muy pequeña del cromosoma 15 y en un

30% por una disomía uniparental del cromosoma 15. Lo que sabemos es que son unos niños que salen hipotónicos, que al año de vida empiezan a engordar, se hacen unos niños obesos y tienen una serie de problemas. Hoy día sabemos que fundamentalmente casi todo ello es debido al trastorno hipotalámico porque parecen que tienen una falta de regulación del apetito, una falta de regulación de la temperatura, tienen una falta de regulación del sueño, incluso también tienen disminuido el umbral del dolor, o sea que parece que esto podría aclarar bastante, entonces mi pregunta concreta es: ¿si hay algún estudio parecido, porque yo lo desconozco, respecto a este tipo de neuronas en pacientes que tienen Síndrome de Prader Willi?

Prof. Rodríguez Rodríguez

Muchas gracias por lo que nos ha traído el Prof. Reinoso y sobre todo porque he intentado recordar y ver una cosa, que es que nosotros en las fibromialgias, en algún tipo de fibromialgia de las que existen utilizamos dos sustancias, que son la gabapentina y los que inhiben la recaptación selectiva de la 5-hidroxitriptamina y fundamentalmente en un tipo de pacientes, en aquellos que tienen alteración del sueño, es decir, que sueñan y sueñan mal y sobre todo en el problema algíco que se correlaciona con la 5-hidroxitriptamina y por eso tanto como los sistemas gabaérgicos como los de la serotonina nos inundan en esa patología y en algo he intentado o he entendido lo que nos ha explicado el Prof. Reinoso. Muchas gracias.

Prof. Pedro Sánchez

Querido Fernando, quiero felicitarte porque cuando uno escucha a Fernando, y cuando uno escucha que el departamento de Anatomía de la Autónoma habla al mundo se escuchan las campanas en el mundo entero y a pesar de que yo no entienda todo el ruido que hacen las campanas me da mucho gusto venir aquí y felicitarte a ti y a todos los que te rodean porque habéis hecho una labor magnífica. Quería únicamente hacer un comentario, desde el punto de vista farmacológico y médico se sabe que prácticamente una de las patologías, se puede llamar patología, más frecuentes en las grandes ciudades es el insomnio, de hecho una de cada tres o cuatro noches,

son noches de sueño químico, y la pregunta que uno a veces hace es ¿no tenemos suficientes medicamentos hipnóticos, buenos, que puedan reproducir la arquitectura fisiológica del sueño que ha presentado el Dr. Reinoso? Las benzodiazepinas se acercan un poquito pero parece ser que no modifican el sueño REM, ¿considera don Fernando que con este tipo de estudios se pueden encontrar hipnóticos más útiles y que se acerquen más a la arquitectura fisiológica? De nuevo muchas felicidades.

**BASES NEUROANATÓMICAS DE LA ACCIÓN
DE LAS HIPOCRETINAS EN EL SISTEMA
RETICULAR ASCENDENTE DE ACTIVACIÓN:
SU APORTACIÓN A LA FISIOPATOLOGÍA
DE LA NARCOLEPSIA**

***NEUROANATOMIC BASES OF HYPOCRETIN
ACTIONS ON THE ASCENDING RETICULAR
ACTIVATING SYSTEM: A CONTRIBUTION
TO NARCOLEPSY PHYSIOPATHOLOGY***

Por el Prof. D. MIGUEL GARZÓN GARCÍA

Profesor Titular de Anatomía Humana y Neurociencia
de la Universidad Autónoma de Madrid

Resumen

El presente trabajo describe a nivel ultraestructural la inervación hipocretinérgica de neuronas de la formación reticular troncoencefálica que proyectan a la corteza frontal medial en la rata. Además, mediante estudios de inmunofluorescencia doble hemos estudiado la proporción con la que esas neuronas reticulares troncoencefálicas contienen neurotransmisores específicos. Nuestros resultados indican que los axones hipocretinérgicos establecen sinapsis de morfología asimétrica con neuronas del locus coeruleus, área tegmental ventral, núcleo dorsal del rafe y núcleo laterodorsal tegmental que proyectan a la corteza frontal medial, a través de las cuales las hipocretinas podrían facilitar la vigilia y la activación cortical.

Abstract

The present study describes at the ultrastructural level the hypocretiner-
gic innervation of brainstem reticular formation neurons that project to the

medial frontal cortex in the rat. In addition, we assess, by using dual immunofluorescence techniques, the proportion of those reticular neurons containing specific neurotransmitters. Our results indicate that hypocretinergic axons make asymmetric synapses with neurons within the locus coeruleus, ventral tegmental area, dorsal raphe nucleus and laterodorsal tegmental nucleus that target the medial frontal cortex. Hypocretins could facilitate wakefulness and cortical activation, therefore, by activation of those neurons with cortical projections in these four reticular nuclei.

INTRODUCCIÓN Y PLANTEAMIENTO

La sintomatología de la narcolepsia consiste fundamentalmente en (1) excesiva somnolencia diurna e (2) inicio de la fase de sueño REM prematuramente (latencia de REM acortada) a veces directamente desde la fase de vigilia sin tener sueño de ondas lentas previo. Los pacientes narcolépticos se caracterizan por presentar niveles muy bajos o indetectables de Hipocretinas/Orexinas (H/O) en líquido cefalorraquídeo (Nishino et al. 2001). Por otra parte, existen modelos animales de narcolepsia que consisten en alteraciones de los receptores orexinérgicos (Lin et al. 1999) o ausencia del péptido (Chemelli et al. 1999). Por esta razón, se propone actualmente que la narcolepsia podría ser una consecuencia directa de una insuficiencia del sistema H/O producida por la degeneración de las neuronas productoras de H/O, que conduce a una hipofunción orexinérgica generalizada. Esta anomalía produciría una alteración en las transiciones normales entre los distintos estados de conciencia y de activación cortical.

Las H/O son péptidos sintetizados por un pequeño grupo de neuronas localizadas en el hipotálamo, especialmente en sus zonas perifornical y posterolateral (de Lecea et al., 1998; Sakurai et al., 1998). Estas neuronas descargan activamente durante la fase de vigilia, disminuyen su tasa de disparo durante el sueño no-REM y llegan a silenciarse prácticamente durante el sueño REM (Lee et al., 2005). Pese a ser un grupo neuronal reducido, las neuronas H/O proyectan abundantemente al tronco del encéfalo y corteza cerebral, innervando densamente estructuras cruciales en la regulación del ciclo vigilia-sueño (CVS) (Peyron et al. 1998). En particular, es llamativa la innervación H/O de algunas estructuras reticulares activadoras de la corteza y favorecedoras de la vigilia, tales como el locus coeruleus (LC), área tegmental ventral (VTA), núcleo dorsal del rafe (DRN) y núcleo late-

rodorsal tegmental (LDT). En el animal libre sin anestesiarse, la estimulación selectiva con H/O en LC, VTA, DRN y LDT, que contienen abundantes receptores hipocretinérgicos, produce un aumento de vigilia y una supresión de sueño REM. En concordancia con estos efectos, H/O tiene un efecto depolarizante (excitatorio) sobre las neuronas del LC, VTA, DRN y LDT *in vitro*. De este modo, las neuronas H/O hipotalámicas activan estructuras favorecedoras de la vigilia.

La formación reticular del tronco del encéfalo proyecta abundantemente a la corteza cerebral directamente a través de un camino subtalámico. Experimentos de degeneración axónica, y más tarde de trazado neural con sustancias que son transportadas a través del axón, demostraron que el LC, VTA, DRN y LDT son precisamente los núcleos de origen de una intensa proyección retículo-cortical directa. Esta proyección alcanza amplios territorios de la corteza cerebral, pero es particularmente abundante en la corteza frontal (Llamas et al., 1975). Los mecanismos exactos por los que las H/O facilitan la activación cortical y el estado de vigilia comportamental distan de ser conocidos en la actualidad, aunque una hipótesis muy plausible es que lo hagan tanto directamente actuando sobre la corteza como indirectamente mediante la activación de neuronas reticulares del tronco del encéfalo de proyección hacia la corteza (para revisión ver Cid-Pellitero and Garzón, 2007; Cid-Pellitero, 2009). Por otro lado, el LC, VTA, DRN y LDT son curiosamente los núcleos reticulares que reciben más densa proyección desde las neuronas H/O.

Además de sus abundantes proyecciones hacia la corteza cerebral, las neuronas del LC, VTA, DRN y LDT tienen su mayor tasa de disparo durante la vigilia comportamental (Nuñez et al., 2009). Desde la utilización pionera de las técnicas de histofluorescencia para la identificación de aminas en tejido nervioso, y posteriormente con el desarrollo de las técnicas inmunohistoquímicas, es bien conocida la existencia de abundantes neuronas noradrenérgicas en LC, dopaminérgicas en VTA, serotoninérgicas en DRN y colinérgicas en LDT (Jones, 2003). Se cree que son mayoritariamente estas neuronas que contienen aminas o acetilcolina las que intervienen en el favorecimiento del estado de vigilia y la activación del EEG producido por la estimulación de la formación reticular troncoencefálica, pero hasta el momento actual no se ha analizado cuál es el peso relativo de estas neuronas aminérgicas y colinérgicas dentro del conjunto de las aferencias reticulares a la corteza frontal medial de la rata.

A nivel celular, se ha demostrado que las neuronas del LC, VTA,

DRN y LDT presentan receptores para H/O y son activadas por H/O en registros in vitro (Nishino and Sakurai, 2006). Además, la administración de H/O en el LC y VTA de la rata produce aumento de vigilia (para revisión ver del Cid-Pellitero y Garzón, 2007). No obstante, el sustrato anatómico a nivel subcelular que subyace a la interacción de H/O con el LC, VTA, DRN y LDT –y cuya degeneración o disfunción está asociada a la narcolepsia– es una tarea todavía pendiente de resolver. En este trabajo hemos estudiado en esos núcleos las interacciones ultraestructurales de H/O con neuronas de proyección hacia la corteza frontal medial mediante la realización de experimentos de marcaje inmunohistoquímico doble de H/O asociado a trazado de vías nerviosas. Los resultados obtenidos sin duda ayudarán a entender los mecanismos celulares que intervienen en la regulación del CVS por H/O, así como las manifestaciones de la narcolepsia, y podrían contribuir a abrir posibilidades terapéuticas para el control de su sintomatología.

OBJETIVOS

- 1) Determinar la topografía y distribución de las neuronas del LC, VTA, DRN y LDT que proyectan a la corteza frontal medial de la rata, y la proporción de esas neuronas con fenotipos noradrenérgico en LC, dopaminérgico en VTA, serotoninérgico en DRN y colinérgico en LDT, respectivamente.
- 2) Estudiar la morfología de las fibras H/O y la distribución subcelular de H/O en LC, VTA, DRN y LDT, así como los contactos celulares entre los axones H/O y las neuronas de estos núcleos que proyectan a la corteza frontal medial en la rata.

MATERIAL Y MÉTODOS

En este estudio se han utilizado 18 ratas adultas Sprague-Dawley provenientes del Animalario de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM). Todos los experimentos fueron realizados de acuerdo a la normativa europea sobre el manejo de animales de experimentación (86/609/EEC: Directiva del Consejo de las Comunidades Europeas 1201/2005) y fueron aprobados por el Comité de Ética para la Experimentación Animal de la UAM.

Inyección del trazador y obtención del tejido

El trazador retrógrado de vías nerviosas FluoroGold (FG) fue inyectado unilateralmente en el sector prelímbico (PL) de la corteza frontal medial. Las cirugías se realizaron bajo anestesia profunda y en condiciones de asepsia mediante métodos estereotáxicos y utilizando procedimientos descritos previamente (Garzón and Pickel, 2004). Transcurridos 6 días tras la inyección de FG, los animales fueron anestesiados profundamente de nuevo y sus encéfalos fueron fijados por perfusión intravascular con paraformaldehído (4%) y glutaraldehído (0.2%) en tampón fosfato 0.1M. Los cerebros fueron postfijados por inmersión en paraformaldehído (4%) durante 2 hr y se cortaron en un Vibratomo en secciones coronales seriadas del LC, VTA, DRN y LDT. Una de las series de todos los animales se procesó mediante la técnica de Nissl para la delimitación de núcleos y tractos.

Procesamiento inmunohistoquímico

- 1) Inmunohistoquímica simple para FG mediante revelado por el método del complejo Avidina-Biotina-Peroxidasa (ABC) con DAB (Garzón and Pickel, 2004).
- 2) Inmunofluorescencia doble para FG asociado a:
Tirosina-hidroxilasa (TH) en el LC y VTA
Serotonina (5-HT) en DRN
Colín-acetil-transferasa (ChAT) en LDT
- 3) Inmunohistoquímica simple para H/O mediante revelado con una modificación del método de la Glucosa Oxidasa intensificada con níquel (Shu et al., 1988).
- 4) Inmunohistoquímica doble para H/O y FG, procesando las mismas secciones de tejido para H/O con peroxidasa-antiperoxidasa más DAB intensificado con níquel y para FG con el método de ABC y DAB simple.

Microscopía electrónica

En 10 de los animales, parte del tejido procesado inmunohistoquímicamente para H/O y FG se preparó para su observación al

microscopio electrónico. Para ello, los cortes seleccionados fueron osmificados, deshidratados e incluidos en plano en resina epóxica. Se obtuvieron cortes ultrafinos de la interfase tejido-resina con una cuchilla de diamante; estos cortes fueron recogidos en rejillas de cobre, teñidos con sales de metales pesados y observados en un microscopio electrónico de transmisión.

Análisis de datos

Los cortes de tejido procesados para microscopía óptica fueron estudiados en un microscopio Nikon Eclipse E600. Se tomaron fotografías representativas del inmunomarcaje simple y doble para H/O y/o FG con una cámara digital, y se realizaron dibujos de la localización de las neuronas marcadas retrógradamente con FG utilizando una lente proyectora y las secciones adyacentes procesadas por la técnica de Nissl.

El tejido procesado para inmunofluorescencia doble (FG+TH/5-HT/ChAT) fue examinado mediante *biomapping* en un microscopio confocal (Leica TCS SP2 Spectral Microscope). Los núcleos de interés fueron estudiados en secciones ópticas de 1 micra de espesor obtenidas con un objetivo multiinmersión 20X, y se cuantificaron las neuronas con marcaje simple o doble.

Para el análisis ultraestructural se utilizaron 12-14 cortes ultrafinos para cada núcleo, que fueron examinados completamente, fotografiando todos los perfiles inmunorreactivos para H/O. La identificación de los perfiles se realizó siguiendo las descripciones de Peters et al. (1991). Se contaron los perfiles inmunorreactivos para H/O, así como los contactos que esos perfiles establecían (apocinonales o sinápticos) de acuerdo a los criterios de Gray (1959). Se determinaron frecuencias relativas, densidad de área del marcaje, así como tipo y número de contactos de los perfiles inmunorreactivos, y se hicieron análisis estadísticos comparativos entre los distintos grupos atendiendo a las distintas variables (animal, sección, núcleo, inmunomarcaje, tipo de contacto) en cada caso.

RESULTADOS

Las neuronas troncoencefálicas marcadas con FG se localizaron fundamentalmente en la región mesopontina, especialmente en el LC,

DRN y LDT, y en menor medida en el VTA. Mucho más escasas fueron las neuronas FG en el núcleo pedúnculo pontino, los núcleos del rafe caudal linear, mediano y pontino, núcleo reticular pontino oral, núcleo parabraquial lateral y sustancia gris central (fig. 1). El FG se localizó de forma dispersa en el citoplasma, en cuerpos multivesiculares y lisosomas de dendritas y somas celulares. El producto de reacción nunca relleno completamente los perfiles marcados, sino que estuvo restringido característicamente a porciones específicas de los mismos (fig. 2C, E, F).

En los cuatro núcleos objeto de este estudio (LC, VTA, DRN y LDT) las neuronas marcadas retrógradamente estuvieron localizadas

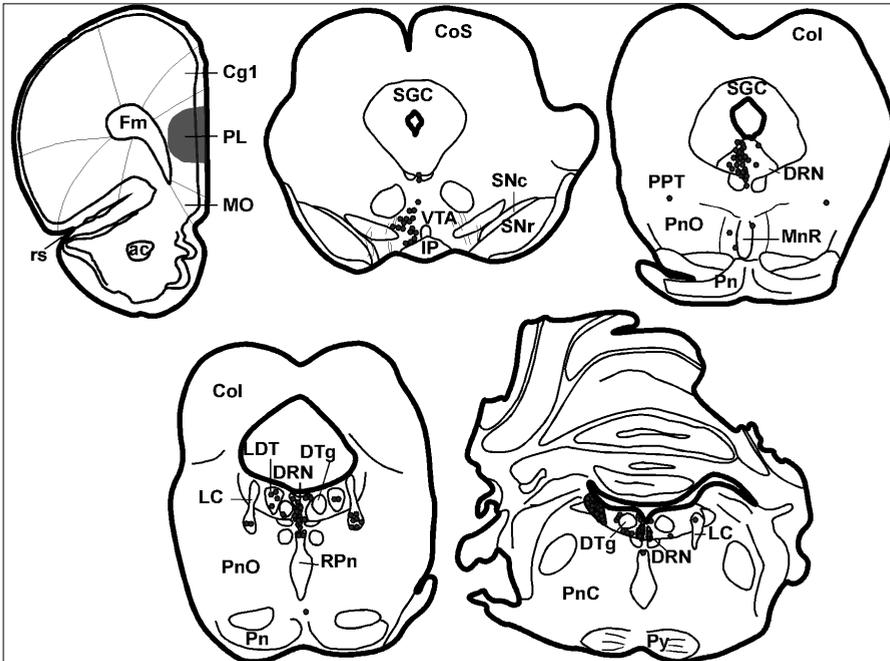


FIGURA 1. Esquemas coronales del encéfalo donde se representan con puntos las neuronas marcadas retrógradamente con Fluorogold en uno de los animales. Se observa que las neuronas marcadas están localizadas principalmente en el locus coeruleus (LC), área tegmental ventral (VTA), el núcleo dorsal del rafe (DRN) y en el núcleo laterodorsal tegmental (LDT). ac: comisura anterior; CG: sustancia gris central; Cg1: corteza cingular; Col: colículo inferior; CoS; colículo superior; DTg: núcleo tegmental dorsal de Gudden; Fm: fórceps menor; IP: núcleo interpeduncular; MnR: núcleo del rafe mediano; MO: corteza orbitomedial; PL: corteza prelímbica; Pn: núcleos del puente; PnO: núcleo pontino oral; PnC: núcleo pontino caudal; PPT: núcleo tegmental pedunculopontino; Py: tracto piramidal; RPn: núcleo pontino del rafe; SNc: sustancia negra compacta; SNr: sustancia negra reticulata; rs: surco rinal.

mayoritariamente en el lado ipsilateral a la inyección de FG (Tabla 1); las neuronas tuvieron una morfología multipolar y en algunos casos, especialmente en el LC, fueron fusiformes. En los experimentos de inmunofluorescencia, las neuronas FG mostraron la misma distribución y morfología que en los experimentos de revelado inmunohistoquímico con DAB. No se observaron diferencias sustanciales en las distribuciones de las neuronas FG detectadas con las dos técnicas (tabla 1).

TABLA 1

Porcentajes de neuronas marcadas con Fluorogold (media \pm error estándar) en el LC, VTA, DRN y LDT detectadas mediante inmunohistoquímica (IH) e inmunofluorescencia (IF)

		LC (%)	VTA (%)	DRN (%)	LDT (%)
IH	Ipsilateral	84.3 \pm 5.5	84.2 \pm 2.1	81.3 \pm 1.7	74.7 \pm 2.8
	Contralateral	15.7 \pm 5.5	15.8 \pm 2.1	18.7 \pm 1.7	25.3 \pm 2.8
IF	Ipsilateral	86.7 \pm 2.8	85.6 \pm 4.8	84.2 \pm 1.8	76.8 \pm 3.7
	Contralateral	13.3 \pm 2.8	14.4 \pm 4.8	15.8 \pm 1.8	23.2 \pm 3.7

En el LC, las neuronas FG se agruparon densamente en la porción compacta del núcleo o LC principal, aunque también se observó alguna neurona en el la porción subcoerulea o pars alfa en localización más ventral. En el VTA, la mayoría de las neuronas estuvieron localizadas en la división parabraquial, y en menor medida en la paranigral; muchas menos neuronas se observaron en la división interfascicular o los núcleos lineares. En líneas generales las neuronas FG del VTA tendieron a agruparse en zonas mediales y ventrales del área. En el DRN las neuronas FG también tuvieron una localización preferente en el sector ventral del núcleo; se observaron en toda la extensión del DRN, pero con predominio en su porción intermedia, que agrupó a casi el 50% de las neuronas. En el LDT las neuronas FG se distribuyeron de forma bastante homogénea por el núcleo (fig. 1).

El doble marcaje inmunofluorescente del FG con marcadores específicos de fenotipo neuroquímico (TH en LC y VTA, 5-HT en DRN y ChAT en LDT) permitió desvelar que muchas de las neuronas que proyectan a la corteza frontal medial desde el tegmento

mesopontino no contienen los neurotransmisores considerados mayoritarios o típicos en los núcleos estudiados (tabla 2). En este sentido, la mayor proporción se encontró en el VTA, en el que casi el 80% de las neuronas no contuvieron TH, y por lo tanto eran neuronas no-dopaminérgicas. El LDT fue el único núcleo en el que las neuronas FG con el neurotransmisor característico del núcleo (acetilcolina) fueron mayoritarias, y aún así, apenas superaron el 58% (tabla 2).

TABLA 2

Porcentajes de neuronas marcadas exclusivamente con Fluorogold (FG) o doblemente marcadas con FG y TH/5-HT/ChAT en el LC, VTA/DRN/LDT respectivamente (media±error estándar)

	LC (%)	VTA (%)	DRN (%)	LDT (%)
FG	68.25±3.75	79.51±4.91	59.81±3.64	41.24±4.45
FG/TH	31.75±3.75	20.49±4.91	40.19±3.64	58.76±4.45

La inervación H/O en LC, VTA, DRN y LDT fue intensa. De hecho estos núcleos se contaron entre los más densamente poblados por axones H/O de todo el tronco del encéfalo, como ha sido descrito previamente por otros autores (Peyron et al., 1998). El LC fue el núcleo con una mayor densidad de área de axones H/O, el DRN y el LDT tuvieron unos niveles intermedios y el VTA presentó la densidad de inervación H/O menor de los núcleos estudiados. Se observaron axones H/O de grosores variables, pero la mayoría eran de pequeño calibre (fig. 2A). Además, en los cuatro núcleos los axones H/O tuvieron numerosas varicosidades, mostrando dilataciones típicas de botones *en passant*. Al microscopio óptico, observamos la presencia de numerosos axones H/O en la cercanía de las neuronas FG, e incluso a veces pareciendo establecer contacto con ellas en el mismo plano focal.

El análisis ultraestructural demostró la presencia de H/O fundamentalmente en axones amielínicos de fino calibre. La mayoría de la inmunorreactividad para H/O fue detectada en sus segmentos intervaricosos, cuya proporción varió entre 60-70% según el núcleo, y el resto se observó en las dilataciones varicosas presentes en los botones *en passant* y en los axones terminales (30-40%) (fig. 2B-F).

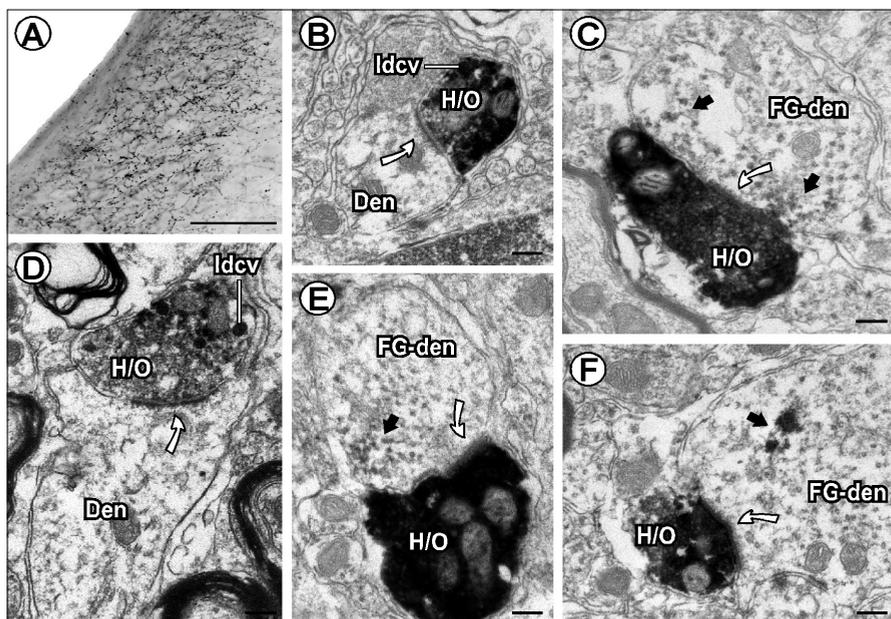


FIGURA 2. Imágenes representativas de la inmunorreactividad para Hipocretina/Orexina (H/O) en axones del locus coeruleus (LC). A, Axones finos varicosos observados con el microscopio óptico en un corte coronal del LC. B-F, Micrografías de la ultraestructura de botones axónicos inmunorreactivos para H/O, y de los contactos que estos establecen en el LC. Nótese la presencia de vesículas grandes de centro denso (ldcv) en los botones H/O, que establecen contactos y sinapsis asimétricas (flechas curvas) con dendritas de neuronas que contienen FG (FG-den) y con neuronas sin marcar (Den). El producto de reacción del FG se indica con flechas rectas negras. Escalas: A, 100 μ m, B-F, 0.2 μ m.

La presencia de inmunomarcaje H/O en axones mielínicos de grueso calibre fue prácticamente anecdótica (0.2-1.1%).

Los botones axónicos H/O contuvieron de forma característica vesículas de centro denso (dcv) y vesículas grandes de centro denso (ldcv) (fig. 2B, D). Estas vesículas generalmente se localizaron alejadas de las especializaciones sinápticas, en cuya proximidad había vesículas pequeñas de centro claro. En esos botones, la inmunorreactividad H/O se observó netamente asociada a las ldcv y también a las dcv, aunque el producto de reacción del DAB-níquel también ocupó gran parte del citoplasma de los botones (fig. 2). En los segmentos intervaricosos este tipo de vesículas se observó sólo ocasionalmente, y la inmunorreactividad H/O apareció distribuida típicamente por toda la superficie del corte, salvo en algunos axones del VTA en que fue más parcheada.

Muchos de los axones H/O encontrados no presentaron especializaciones sinápticas evidentes en el plano de corte observado. Las sinapsis detectadas tuvieron en todos los casos morfología asimétrica, típica de contactos de tipo excitador, y se localizaron casi exclusivamente asociadas a los terminales axónicos y a las dilataciones varicosas en passant. Los contactos de los botones H/O, ya fueran aposiciones o sinapsis (tabla 3B), se establecieron tanto con neuronas FG (fig. 2C,E,F) como con neuronas no marcadas (fig. 2B,D) (tabla 3A). Los axones H/O del LC fueron los que más frecuentemente contactaron con neuronas marcadas con FG, y que por lo tanto eran neuronas que proyectaban a PL (tabla 3).

TABLA 3

Contactos establecidos por los axones inmunorreactivos para Hipocretina/ Orexina en el locus coeruleus (LC), área tegmental ventral (VTA), núcleo dorsal del rafe (DRN) y núcleo laterodorsal tegmental (LDT). A, Porcentajes de contactos celulares con neuronas que proyectan a la corteza PL (Fluorogold, FG) o que no lo hacen (no-FG). B, Porcentajes de contactos celulares segregados en aposiciones y sinapsis

A

	Contactos (%)	
	FG	No-FG
LC	35.73	64.27
VTA	30.77	69.23
DRN	22.32	77.68
LDT	20.94	79.06

B

	Contactos (%)	
	apositiones	sinapsis
LC	66.20	33.8
VTA	88.26	11.74
DRN	83.31	16.69
LDT	80.87	19.13

DISCUSIÓN

En este trabajo hemos aportado información novedosa acerca de las relaciones celulares de las H/O con las neuronas que proyectan al sector prelímbico de la corteza cerebral de la rata presentes en el LC, VTA, DRN y LDT, estructuras activamente implicadas en el estado de vigilia, así como del fenotipo neuroquímico de esas neuronas. Como se ha indicado en la Introducción, en la literatura sólo existen antecedentes parciales sobre estas cuestiones, cuyo conoci-

miento es relevante para entender cómo el sistema hipocretinérgico/orexinérgico participa en la regulación del ciclo vigilia-sueño y también para intentar esclarecer los mecanismos fisiopatológicos de la narcolepsia. Hemos descrito por primera vez de manera detallada la distribución de los perfiles que contienen H/O en estos núcleos, así como las relaciones ultraestructurales de los axones que contienen H/O con las neuronas que proyectan a la corteza PL desde el LC, VTA, DRN y LDT. Nuestros resultados proporcionan nueva información sobre los posibles mecanismos celulares a través de los cuales las H/O pueden activar la corteza cerebral, favoreciendo el estado de vigilia y regulando los cambios entre las distintas fases del CVS.

El hallazgo de intensas proyecciones hacia el sector PL de la corteza frontal medial desde el LC, VTA, DRN y LDT en nuestros animales enfatiza la importancia que se ha otorgado a estos núcleos y sus proyecciones ascendentes como parte del sustrato morfológico de muchos de los procesos cognitivos y atencionales propios de la vigilia, y de reacciones de alerta que ocurren claramente en este estado, así como del propio estado de consciencia (Reinoso-Suárez, 1997; Heidbreder and Groenewegen, 2003; Jones, 2003).

Se sabe que las neuronas H/O pueden contener otros transmisores, como por ejemplo Glu (Torrealba et al., 2003), pero no parecen contener GABA en aquellas estructuras donde se ha estudiado (Torrealba et al., 2003; Balcita-Pedicino and Sesack, 2007). En concordancia con estos hallazgos, los axones H/O observados en nuestro estudio establecen contactos sinápticos de tipo asimétrico, típicos de axones excitadores (Gray, 1959) y producen respuestas despolarizantes en el elemento postsináptico (de Lecea et al., 1998).

Nuestros resultados, por lo tanto indican que la H/O participa en el mantenimiento de la activación cortical en parte mediante sus acciones excitadoras sobre neuronas de LC, VTA, DRN y LDT. Demostramos, por una parte, que en estos núcleos la H/O actúa probablemente sobre neuronas que contienen neurotransmisores muy variados, y no sólo aminas (LC, VTA, DRN) o acetilcolina (LDT), y además que existen contactos sinápticos y aposicionales con neuronas de axón largo que alcanzan directamente la corteza cerebral y, por lo tanto, pueden modular sus respuestas postsinápticas (excitatorias). Además, la presencia de vesículas grandes de centro denso, así como su relativa distancia a las especializaciones sinápticas, indica que los axones H/O podrían actuar sobre las neuronas de estos núcleos mediante un mecanismo de transmisión volumétrica similar al descrito para otros

sistemas (Pickel et al., 2002; Torrealba and Carrasco, 2004). Ambas modulaciones (sináptica y volumétrica) pueden tener un papel importante en la activación cortical contribuyendo a la estabilización de los distintos estados del ciclo vigilia-sueño y al mantenimiento del estado de vigilia. A la luz de estos hallazgos, y de los existentes previamente en la literatura, es comprensible que la disminución de las acciones H/O en estos núcleos (LC, VTA, DRN Y LDT) produzca una incapacidad para mantener episodios de vigilia prolongados, que es, por otra parte, un signo característico de todos los individuos narcolépticos (del Cid-Pellitero and Garzón, 2007).

Los resultados de este trabajo añadidos a estudios previos de nuestro grupo nos permiten proponer un modelo de funcionamiento del sistema H/O en la regulación del ciclo vigilia-sueño (figura 3). Las neuronas H/O disparan con alta frecuencia durante la vigilia, y es en esta fase cuando la liberación de H/O en LC, VTA, DRN y LDT favorece el aumento en la actividad de estos núcleos, y a través de sus proyecciones ascendentes (corticales y talámicas) se facilita la activación cortical. En esta acción también es esencial la activación H/O de las neuronas del tegmento pontino oral dorsolateral, una región reticular localizada adyacente al LC principal (Moreno-Balandrán et al., 2008). Al mismo tiempo que ocurren estas acciones durante la vigilia, las neuronas Hcrt/Ox suprimen o dificultan la generación de sueño: de sueño lento actuando sobre estructuras proencefálicas como la región preóptica (España et al., 2001) y de sueño REM actuando sobre su zona generadora en el tegmento pontino oral ventral (vRPO; Nuñez et al., 2006; Moreno-Balandrán et al., 2008). Estas acciones supresoras de sueño REM están mediadas por activación de neuronas inhibitorias GABAérgicas (Nuñez et al., 2006) (figura 3). En la narcolepsia, la desaparición de esa inhibición tras la degeneración de las neuronas OX hipotalámicas originaría la presencia de ataques incoercibles de sueño REM y pérdida total de la ritmicidad de las fases del ciclo vigilia-sueño, lo que constituye el síntoma principal de esa entidad patológica. La supresión de sueño REM en el vRPO es además una acción específica, que afecta únicamente a la manifestación de esa fase del ciclo vigilia-sueño por bloqueo de sus mecanismos generadores, a diferencia de la disminución de REM producida por H/O en zonas dorsolaterales del tegmento pontino mediante interferencia con otras fases del ciclo y/o acciones des-facilitadoras sobre la generación de REM (Moreno-Balandrán et al., 2008)

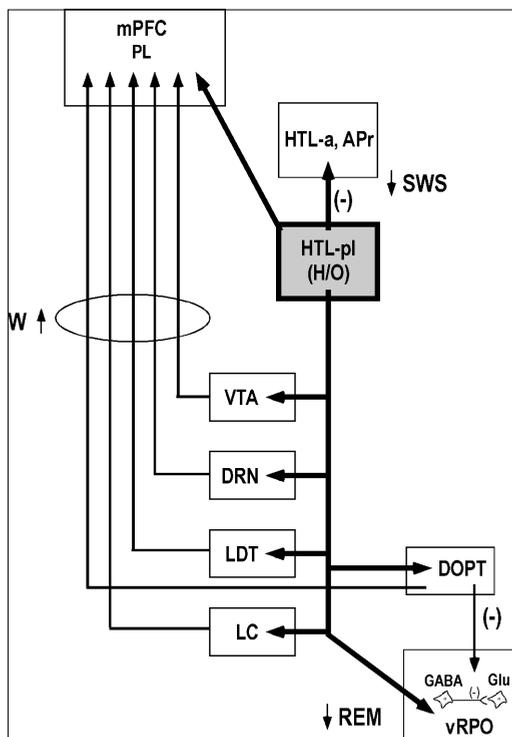


FIGURA 3: Esquema resumen de la modulación del ciclo vigilia-sueño por el sistema hipocretinérgico/orexinérgico (H/O). APr: área preóptica; DOPT: tegmento pontino oral dorsal; DRN: núcleo dorsal del rafe; GABA: ácido gamma aminobutírico; Glu: glutamato; HTL-a: hipotálamo anterior; HTL-pl: hipotálamo posterolateral; LC: locus coeruleus; LDT: núcleo laterodorsal tegmental; mPFC: corteza frontal medial; PL: sector prelímbico; REM: sueño REM; SWS: sueño lento; VTA: área tegmental ventral; vRPO: núcleo reticular oral ventral del puente; W: vigilia.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se ha realizado con ayudas del Ministerio de Educación y Ciencia (BFI 2006-07430 y BFI 2009-06991) y la Fundación Eugenio Rodríguez Pascual.

BIBLIOGRAFÍA

BALCITA-PEDICINO, J. J.; SESACK, S. R. (2007). «Orexin axons in the rat ventral tegmental area synapse infrequently onto dopamine and gamma-aminobutyric acid neurons». *J. Comp. Neurol.*, 503:668-684.

- CHEMELLI, R. M.; WILLIE, J. T.; SINTON, C. M.; ELMQUIST, J. K.; SCAMMELL, T.; LEE, C.; RICHARDSON, J. A.; WILLIAMS, S. C.; XIONG, Y.; KISANUKI, Y.; FITCH, T. E.; NAKAZATO, M.; HAMMER, R. E.; SAPER, C. B.; YANAGISAWA, M. (1999). «Narcolepsy in orexin knockout mice: molecular genetics of sleep regulation». *Cell*, 98:437-451.
- CID-PELLITERO, E. (2009). *Inervación hipocretinérgica/orexinérgica de las neuronas mesopontinas que proyectan a la corteza prefrontal de la rata. Implicaciones en la regulación del ciclo vigilia-sueño*. Tesis Doctoral. Facultad de Medicina. Universidad Autónoma de Madrid.
- DEL CID-PELLITERO, E.; GARZÓN, M. (2007). «El sistema de neurotransmisión hipocretinérgico/orexinérgico en la regulación de los estados de vigilia y sueño». *Rev Neurol*, 45:482-490.
- ESPAÑA, R. A.; BALDO, B. A.; KELLEY, A. E.; BERRIDGE, C. W. (2001). «Wake-promoting and sleep-suppressing actions of hypocretin (orexin): basal forebrain sites of action». *Neuroscience*, 106:699-715.
- GARZÓN, M.; PICKEL, V. M. (2004). «Ultrastructural localization of Leu5-enkephalin immunoreactivity in mesocortical neurons and their input terminals in rat ventral tegmental area». *Synapse*, 52:38-52.
- GRAY, E. G. (1959). «Axo-somatic and axo-dendritic synapses of the cerebral cortex: an electron microscope study». *J. Anat.*, 93:420-433.
- HEIDBREDER, C. A.; GROENEWEGEN, H. J. (2003). «The medial prefrontal cortex in the rat: evidence for a dorso-ventral distinction based upon functional and anatomical characteristics». *Neurosci Biobehav Rev.*, 27:555-579.
- JONES, B. E. (2003). «Arousal systems». *Front Biosci*, 8:438-451.
- DE LECEA, L.; KILDUFF, T. S.; PEYRON, C.; GAO, X.; FOYE, P. E.; DANIELSON, P. E.; FUKUHARA, C.; BATTENBERG, E. L.; GAUTVIK, V. T.; BARTLETT, F. S.; and FRANKEL, W. N.; VAN DEN POL, A. N.; BLOOM, F. E.; GAUTVIK, K. M.; SUTCLIFFE, J. G. (1998). «The hypocretins: hypothalamus-specific peptides with neuroexcitatory activity». *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, 95:322-327.
- LEE, M. G.; HASSANI, O. K.; JONES, B. E. (2005). «Discharge of identified orexin/hypocretin neurons across the sleep-waking cycle». *J. Neurosci*, 25:6716-6720.
- LIN, L.; FARACO, J.; LI, R.; KADOTANI, H.; ROGERS, W.; LIN, X.; QIU, X.; DE JONG, P. J.; NISHINO, S.; MIGNOT, E. (1999). «The sleep disorder canine narcolepsy is caused by a mutation in the hypocretin (orexin) receptor 2 gene». *Cell*, 98:365-376.
- LLAMAS, A.; REINOSO-SUÁREZ, F.; MARTÍNEZ-MORENO, E. (1975). «Projections to the gyrus praeus from the brain stem tegmentum (locus coeruleus, raphe nuclei) in the cat, demonstrated by retrograde transport of horseradish peroxidase». *Brain Res.*, 89:331-336.
- MORENO-BALADRÁN, E.; GARZÓN, M.; BODALO, C.; REINOSO-SUÁREZ, F.; DE ANDRÉS, I. (2008). «Sleep-wakefulness effects after microinjections of hypocretin 1 (orexin A) in cholinceptive areas of the cat oral pontine tegmentum». *Eur J Neurosci*, 28:331-341.
- NISHINO, S.; RIPLEY, B.; OVEREEM, S.; NEVSIMALOVA, S.; LAMMERS, G. J.; VANKOVA, J.; OKUN, M.; ROGERS, W.; BROOKS, S.; MIGNOT, E. (2001). «Low cerebrospinal fluid hypocretin (Orexin) and altered energy homeostasis in human narcolepsy». *Ann. Neurol.*, 50:381-388.

- NISHINO, S.; SAKURAI, T. (2006). *The Orexin/Hypocretin System*, 3rd Edition. Totowa: Humana Press.
- NÚÑEZ, A.; MORENO-BALANDRÁN, M. E.; RODRIGO-ANGULO, M. L.; GARZÓN, M.; DE ANDRÉS, I. (2006). «Relationship between the perifornical hypothalamic area and oral pontine reticular nucleus in the rat. Possible implication of the hypocretinergic projection in the control of rapid eye movement sleep». *Eur. J. Neurosci*, 24:2834-2842.
- NÚÑEZ, A.; RODRIGO-ANGULO, M.; DE ANDRÉS, I.; GARZÓN, M. (2009). «Hypocretin/orexin neuropeptides: participation in the control of sleep-wakefulness cycle and energy homeostasis». *Current Neuropharmacology*, 7:50-59.
- PETERS, A.; PALAY, S. L.; WEBSTER, H. (1991). *The fine structure of the Nervous System*, 3rd Edition. New York: Oxford University Press.
- PEYRON, C.; TIGHE, D. K.; VAN DEN POL, A. N.; DE LECEA, L.; HELLER, H. C.; SUTCLIFFE, J. G.; KILDUFF, T. S. (1998). «Neurons containing hypocretin (orexin) project to multiple neuronal systems». *J. Neurosci.*, 18:9996-10015.
- PICKEL, V. M.; GARZÓN, M.; MENGUAL, E. (2002). «Electron microscopic immunolabeling of transporters and receptors identifies transmitter-specific functional sites envisioned in Cajal's neuron». *Prog Brain Res.*, 136:145-155.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1997). «Neurobiología del despertar y de la vigilia». *An. R. Acad. Nac. Med.*, 114:249-265.
- SAKURAI, T.; AMEMIYA, A.; ISHII, M.; MATSUZAKI, I.; CHEMELLI, R. M.; TANAKA, H.; WILLIAMS, S. C.; RICHARDSON, J. A.; KOZLOWSKI, G. P.; WILSON, S.; ARCH, J. R.; BUCKINGHAM, R. E.; HAYNES, A. C.; CARR, S. A.; ANNAN, R. S.; McNULTY, D. E.; LIU, W. S.; TERRETT, J. A.; ELSHOURBAGY, N. A.; BERGSMA, D. J.; YANAGISAWA, M. (1998). «Orexins and orexin receptors: a family of hypothalamic neuropeptides and G protein-coupled receptors that regulate feeding behavior». *Cell*, 92:573-585.
- SHU, S. Y.; JU, G.; FAN, L. Z. (1988). «The glucose oxidase-DAB-nickel method in peroxidase histochemistry of the nervous system». *Neurosci Lett*, 85:169-171.
- TORREALBA, F.; CARRASCO, M. A. (2004). «A review on electron microscopy and neurotransmitter systems». *Brain Res. Brain Res. Rev.*, 47:5-17.
- TORREALBA, F.; YANAGISAWA, M.; SAPER, C. B. (2003). «Colocalization of orexin a and glutamate immunoreactivity in axon terminals in the tuberomammillary nucleus in rats». *Neuroscience*, 119:1033-1044.

INTERVENCIONES

Prof. Rubia Vila

Muchas gracias Dr. Garzón por la interesante presentación que me ha sugerido dos preguntas muy concretas. A la vista de la profusa proyección de las neuronas hipocretinérgicas en dirección rostral hacia el encéfalo y en dirección caudal que recuerda la proyección de otros neurotransmisores, ¿hasta que punto se puede hablar

de un efecto específico?, la primera pregunta, y la segunda en relación con la narcolepsia, el hecho de una presencia aumentada o disminuida en el líquido cefaloraquídeo de un determinado neurotransmisor en otros casos no suele ser índice de metabolismo cerebral ¿por qué se puede hablar aquí de una relación del aumento del líquido cefaloraquídeo en la narcolepsia?. Muchas gracias.

Prof. Pérez Pérez

Yo quiero felicitar a nuestro ponente, lo mismo que el anterior, por un tema tan importante, es importantísimo. Yo quisiera saber, primero ¿Por qué utilizan ustedes animales tan extraños como es la rata y el gato libre, que debe ser un diablo?, sin embargo, la zootecnia hoy tiene razas de animales específicos para determinadas investigaciones, investigaciones cerebrales, que son hembras que tienen una masa encefálica enormemente desarrollada y anatómicamente bien diferenciada, pues bien, valdría la pena hacer una selección de animales de experimentación, que para eso está la zootecnia aplicada a la investigación, eso en primer lugar, y en segundo lugar: hay temas tan importantes, me ha parecido interesantísimo todo esto en relación con la fisiología profunda de la anestesiología, porque las aportaciones que ustedes, los dos han hecho en el tema de la anestesiología es muy importante, porque hay que ver donde termina la anestesia, donde comienza el sueño, que relación tiene el sueño con la anestesia. Y luego hay un episodio que podríamos decir que es un tanto vulgar, y es el siguiente, nosotros sabemos que existen animales perros, que se llaman guardianes de rebaños, son perros mastines de un gran desarrollo encefálico, pero estos animales no duermen, es decir, alternan la vigilia con el sueño, de tal manera que rítmicamente durante la noche emiten unos ladridos, ellos están dormidos, para qué, pues sencillamente para que el sonoro de este ladrido ahuyente al lobo, y el perro está durmiendo pero está ladrando al mismo tiempo, qué relación puede tener todo esto?, es decir, son temas verdaderamente fantásticos porque aquí en este episodio no sabemos cuando termina el sueño y cuando comienza la vigilia porque este animal que está atento al tema o como se programa todo esto?, bueno perdonen estas interpretaciones, pero yo tengo que felicitarles porque han sido aportaciones muy importantes, mucho más importantes que el tema profundo de las tinciones de los aislamien-

tos de las localizaciones son precisamente estas derivaciones aplicativas de este tema tan importante. Muchas gracias.

Prof. Serrano Ríos

Muchas gracias. Enhorabuena, yo creo que es un trabajo espectacular, yo francamente he tenido dificultades en seguirlo, pero no las sugerencias, igual que ha pasado con el trabajo del Prof. Reinoso que es igualmente importante. En realidad aquí lo que se describe, con tanta minuciosidad, es el sitio donde se hacen las cosas, lo que uno se pregunta como fisiólogo y fisiopatólogo es cómo se hacen las cosas, en fin, no es un juego de palabras, las orexinas, las dos, sobre todo la 2, interviene de manera muy crítica en la regulación del apetito y además lo hacen en sinergia con otros péptidos, como por ejemplo la grelina, y tienen un juego antagónico con otro que es la leptina, antes se ha mencionado por el Dr. García Sagredo el Síndrome genético de Prater Willi, en realidad hay un modelo extremadamente importante que fue descrito hace años por un Grupo Reily en Oxford en el que existe un defecto congénito en el receptor de leptina, no sólo de leptina sino de MCR-4 que son los dos que están en antagonismos con las orexinas justamente, entonces en estos sujetos de los cuales además hay referencias en la literatura porque son familias muy concretas, hay incluso en la familia española, típicamente tienen un trastorno del sueño y entonces esta es la primera pregunta: puede que el trastorno del sueño esté asociado a trastornos en la regulación de trastornos esenciales como el apetito, por ejemplo se ha hablado mucho en la obesidad y se le atribuye todo a la apnea de sueño, a la hipoxia, pero tienen típicamente trastornos del sueño no relacionados con esto, y voy a lo que realmente algún fisiopatólogo, yo creo que siempre ignorante en neurobiología, por supuesto, es este caso le sugiere, en primer lugar: ¿están las orexinas, mi opinión es que si, localizadas fuera del sistema nervioso central? Porque prácticamente todos los neuropéptidos están localizados cuando tienen funciones como las que estoy hablando, a lo largo de tracto gastrointestinal porque tienen un origen como en la cresta neural en el desarrollo, esto sería una pregunta importante porque sería interesante ver qué estímulos harían soltar o liberar orexina desde la periferia para tener interacción en el sistema nervioso central, porque tenemos ahora el paso siguiente, sa-

ber qué activa esas orexinas para que justamente sigan ese camino tan maravillosamente bien descrito, y eso permitiría elaborar estrategias farmacológicas. Respecto al sueño hay un síndrome, no sólo el de la narcolepsia, yo he visto muy pocos casos en mi vida y no recuerdo si tenían trastornos del apetito o no francamente, pero si hay un estudio que en la literatura está identificado, de familias que tienen insomnio, que no han dormido en 30 ó 40 años y a mi me parece que sería una información interesante saber, esto sería una petición de información, ¿qué ha pasado y si se han estudiado? Porque hay estudios genéticos pero yo no recuerdo mucho más, así que reitero mi felicitación al Prof. Reinoso y al Dr. Garzón, y me parece que realmente es de una gran altura científica espectacular incluso a los neurobiólogos nos sugiere muchas preguntas, yo creo que ahora lo que habría que contestar es ¿qué es lo que hace que las orexinas actúen, desde fuera del sistema nervioso central, si están localizadas en el tubo digestivo, cosa que no sería extraña, sería uno de los mecanismos que nos ayudarían a ver una complejión global del trastorno del sueño? Muchas gracias.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Muchas gracias. Solamente dos palabras para agradecer a los dos ponentes en el día de hoy, el Prof. Reinoso y el Prof. Garzón, por las dos magníficas aportaciones que han hecho dentro del campo de la neurobiología, aportaciones que de alguna forma en el día de hoy quedan ensombrecidas por el fallecimiento del Prof. Moya. Nuestro sentimiento, el sentimiento de todos los Académicos en el día de hoy, es un sentimiento de tristeza, un sentimiento de pesar. Hoy tenemos aquí además con una enorme valentía a su hija, Académico Correspondiente de esta Real Academia, y a ella le transmitimos el sentimiento, el profundo sentimiento de toda la Academia, a la vez que le pedimos lo transmita a su madre y a toda su familia. El Prof. Moya ha sido un ejemplo de dedicación a la Universidad y a la Academia, una persona eminentemente trabajadora y entregada, buen compañero, siempre dispuesto al trabajo y siempre además emprendiendo acciones nuevas. En su última faceta, después de la jubilación, después del Decanato durante tantos años, en el Colegio de Médicos de Madrid, presidiendo la Comisión Deontológica a la cual le dio un gran impulso. Su labor es verdaderamente merecedora de

admiración Por tanto hoy es un día triste para la Academia y hoy de alguna forma todos estamos en el recuerdo y todos nos sentimos en ese sillón vacío que él tantas veces ocupó. En esa Tribuna que hace muy pocas semanas expresaba sus pensamientos sobre aspectos deontológicos. Todos nos identificamos con ese dolor que hoy siente la Academia y por supuesto toda su familia.

Se levanta la Sesión.

XII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 27 DE ABRIL DE 2010

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

**HISTORIA CONTEXTUALIZADA DE LA ACADEMIA
MÉDICA MATRITENSE EN RELACIÓN CON LAS
ACADEMIAS SANITARIAS COETÁNEAS DURANTE
LA PRIMERA ETAPA (2.º TERCIO DEL SIGLO XVIII)**

**THE ENVIRONMENT OF THE FIRST STAGE OF
THE ACADEMIA MÉDICA MATRITENSE (2.º THIRD
OF THE 18TH CENTURY): DETERMINANT NOTES
FOR A SUITABLE VALUATION**

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

Académico de Número

**ARTROPLASTIA TOTAL:
LAS OTRAS SUPERFICIES; DESGASTE
Y OSTEOLISIS**

**TOTAL ARTHROPLASTY: THE OTHER SURFACES.
WEAR AND TEAR AND OSTEOLYSIS**

Por el Ilmo. Sr. D. LUIS MUNUERA MARTÍNEZ

Académico Correspondiente Honorario

**HISTORIA CONTEXTUALIZADA DE LA ACADEMIA
MÉDICA MATRITENSE EN RELACIÓN CON LAS
ACADEMIAS SANITARIAS COETÁNEAS DURANTE
LA PRIMERA ETAPA (2.º TERCIO DEL SIGLO XVIII)**

**THE ENVIRONMENT OF THE FIRST STAGE OF
THE ACADEMIA MÉDICA MATRITENSE (2.º THIRD
OF THE 18TH CENTURY): DETERMINANT NOTES
FOR A SUITABLE VALUATION**

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

Académico de Número

Resumen

Se constata la naturaleza *intrínseca* de las historias que se han escrito de la Real Academia Nacional de Medicina hasta el presente y se inicia la construcción de una *historia contextualizada* de la misma referida a su primera etapa y en relación con la proliferación de las academias sanitarias coetáneas de farmacéuticos, cirujanos y médicos.

Abstract

The intrinsic nature of the written histories of the Real Academia Nacional de Medicina until the present is confirmed and the construction of a contextualized history of its first stage and in relation to the proliferation of contemporary health-related academies of pharmacists, surgeons and doctors is started.

INTRODUCCIÓN

El trabajo de investigación histórica que ha dado lugar a este artículo se inserta en la conmemoración del «275 ANIVERSARIO: 1734-2009» de la Real Academia Nacional de Medicina de modo que supone el origen de ésta con unas *características* determinadas: 1) fecha de nacimiento: el 13 de septiembre de 1734; 2) mediante un acto de *aprobación oficial*; 3) con la denominación formal de *academia*; y 4) referido a la Academia Médica *Matritense*.

Se publica aquí, por exigencias formales de estos *Anales*, una síntesis apretada del texto ya de por sí resumido que se entrega en el Archivo de la Real Academia Nacional de Medicina, prescindiendo además necesariamente de las notas y referencias bibliográficas.

1. **Las *historias existentes de la Real Academia Nacional de Medicina***

El conjunto de *historias* de la Academia que han precedido a las reflexiones presentes está constituido por seis tipos de documentos de los que el más completo y significativo es el libro *Historia de la Real Academia Nacional de Medicina* de Luis Sánchez Granjel, Madrid, 2006, escrita «recurriendo al examen exhaustivo de las fuentes documentales: los Libros de Actas y los documentos que atesora el Archivo de la Academia». Todas estas historias *tienen en común* que se han escrito *desde dentro*, prácticamente sólo con la documentación que se posee en la actual Real Academia Nacional de Medicina. Constituyen *historias intrínsecas* o bien un conjunto de obras que han permitido construir y conocer la *historia intrínseca* de la Real Academia Nacional de Medicina.

2. **Objeto: la *contextualización de la Primera etapa de la Historia de la Real Academia Nacional de Medicina***

Conocida *intrínsecamente* la historia de la Academia, en *perspectiva diacrónica*, aunque sea no sólo quebrada sino discontinua, interesa conocer también con cierta precisión el contorno y el exterior, y desde éste hacia el interior, es decir, la *perspectiva extrínseca, relacional y/o respectiva* con sus alrededores para disponer así de una correcta narración y, en consecuencia, valoración.

El objeto de este trabajo consiste en contextualizar los orígenes y primera etapa para colaborar en la tarea de la construcción de la historia de la actual Real Academia Nacional de Medicina en su marco. Y así, cubrir, indirectamente, algunas lagunas; dar luz a lo *intrínseco* desde lo *extrínseco* en su respectividad.

3. La *historia contextualizada*

Las miradas que se pretenden dirigir a la Academia Médica Matritense en su *primera etapa* como *historia contextualizada*, pueden orientarse desde las perspectivas que ofrecen los siguientes elementos, unos conceptuales y otros institucionales: 1) El concepto de *academia* y sus variadas denominaciones formales; 2) El mito de la *antigüedad* que convierte antecedentes *pre* y *proto* históricos en propiamente históricos; 3) Los *antecedentes* objeto de conmemoración; 4) El estado de la Medicina, en especial con referencia al médico, cirujano, botánico y astrónomo José Celestino Mutis, viviente de la época; 5) El fenómeno del numeroso tránsito personal de la medicina a la botánica; 6) La admiración de los científicos de la vida a la *ciencia fundamental*; 7) La Inquisición por la *ciencia fundamental* y ante las ciencias médicas; 8) El hecho de la proliferación en la península ibérica de las academias sanitarias en el segundo tercio del siglo XVIII; 9) La Regia Sociedad Médica y demás Ciencias de Sevilla; 10) Las actividades de la Academia Médica Matritense; 11) El Real Colegio de Boticarios; 12) El Real Colegio de Cirujanos; 13) La Sociedad Médica de la Esperanza; 14) Las sucesivas Academias de Cirugía de Oporto; 15) Las primeras ediciones de la *Farmacopea Matritense*; 16) El Real Jardín Botánico y los jardines botánicos; 17) El Real Gabinete de Historia Natural; 18) Consideraciones acerca del carácter de 'nacional'; 19) El juicio de Mutis sobre las Academias Médicas madrileñas; 20) La *nonnata* Academia de Ciencias; y 21) La *Asamblea Amistosa Literaria* de Jorge Juan, Louis Godin y Pedro Virgili en Cádiz, 1755-1758.

No son todos los focos posibles, pero sí, sin duda, harto significativos muchos de ellos y en conjunto más que suficientes para avanzar en el conocimiento histórico de nuestra Real Academia Nacional de Medicina. En esta comunicación sólo se tratarán algunas de estas perspectivas, las relativas a las instituciones más próximas por su carácter de 'academias' sanitarias coetáneas.

PRIMERA PARTE
LA HISTORIA INTRÍNSECA

4. Las fases de la Primera etapa de la Historia de la Real Academia Nacional de Medicina: notas significativas

Se organizan estas fases de acuerdo con Granjel (2006).

a) *PRIMERA FASE. La Tertulia Médica Matritense (1733-34)*

Las notas *formales* (no las *actividades*) significativas que deseamos destacar en este origen, y hacerlo de manera sucinta, son las siguientes: 1.^a) Creada por el boticario Joseph Hortega y Hernández (1703-1761); 2.^a) Socio de la Regia Sociedad de Medicina y demás Ciencias de Sevilla; 3.^a) (Parece ser que) Recién llegado (de Sevilla) a Madrid (1732) como examinador del Real Protomedicato; 4.^a) Con un «noble espíritu de emulación» de la Regia Sociedad sevillana; 5.^a) Como tertulia privada: en la ‘pieza de librería’ de su domicilio-botica de la calle Montera de Madrid; 6.^a) Integrada equilibradamente por las tres profesiones sanitarias: médicos, cirujanos y boticarios; 7.^a) Con el nombre de ‘Tertulia Literaria Médica-Chymica-Physica’ y Estatutos aprobados en 1733. Se llegó a un acuerdo por la Junta de fundadores para la rotación en la Presidencia de las tres profesiones integradas en la tertulia: médicos, cirujanos y boticarios; y 8.^a) Con el «fin único del adelanto y el cultivo de las Facultades médica-chymica y pharmaceutica» y la intención de «reformar la enseñanza de la Anatomía»

b) *SEGUNDA FASE. «La Academia de Cervi [1734-46] y Suñol [1746-52]» (1734-1752)*

Las notas destacables de esta nueva y muy diferente fase pueden ser las siguientes.

1.^a) El tránsito de *tertulia privada a organismo oficial* tendría lugar muy rápidamente, en 1734, mediante aprobación por el Consejo de Castilla con informe previo del Protomedicato y refrendo o sanción real.

2.^a Sumisión al Proto-Medicato, «todopoderoso Tribunal, institución que desde fines del siglo XV gobernaba el ejercicio de las profesiones sanitarias con autoridad no sometida al Real Consejo de Castilla», con la obligación de informar de las actividades.

3.^a Sumisión al Presidente del Proto-Medicato, con categoría de perpetuo y cargo reservado al Primer Médico de Cámara del Rey, que será a su vez Presidente perpetuo de la Academia, aunque no asistiera prácticamente nunca a las sesiones de la misma.

4.^a Ingreso sin trámites de los Médicos de Cámara y de Familia, las dos categorías de médicos cortesanos.

5.^a Sin sede, las reuniones tienen lugar en el domicilio de Joseph Hortega, secretario perpetuo.

6.^a Sin medios económicos oficiales, de forma que se exige abono de cuotas mensuales a los académicos.

7.^a Con el nombre de *Academia Médica Matritense*.

8.^a De manera que «el fin primario e idea general de la Academia sería manifestar las verdaderas provechosas máximas de la Medicina y Cirugía y la mejor práctica de sus operaciones por el camino de la observación y la experiencia, proponer las utilidades de la Physica Médica, adelantar los descubrimientos de la Anatomía, distinguir sin confusión los experimentos Chímicos y finalmente aberiguar quanto puede ser útil y conveniente de la sociedad admirable de la Historia Natural».

c) TERCERA FASE. «Los años oscuros» (1752-1784)

Esta tercera fase se caracteriza también por las seis notas intermedias anteriores pero con mayor pérdida de libertad y responsabilidad social, mayor cansancio de los académicos, menor atención pública y la consideración de desprecio que se recibe y percibe cuando en 1752 desde el poder se nombra también al vicepresidente (cargo tradicionalmente 'electo' por los académicos y que ejercía de presidente en funciones).

5. Unas primeras notas complementarias

Implícitamente las referidas seis notas anteriores intermedias (2.^a a 6.^a) relativas a las fases segunda y tercera hablan por sí mis-

mas de lo que debe explicitarse desde otra perspectiva y fruto de otras convicciones.

De momento basten unas primeras *notas complementarias* de las consideradas en el párrafo anterior *notas significativas*.

Primera. La Academia Médica Matritense *no interesa al Poder*, se exprese éste por el Rey, por los Secretarios de S. M., por el Consejo de Castilla, por el Proto-Medicato, o por el Presidente de éste que es a su vez presidente de la Academia.

Segunda. La Academia como institución es absolutamente *irrelevante* ante el poder y ante la sociedad; a lo sumo, en sus mejores momentos, es foro de reunión de académicos.

Tercera. *Sumisión al Poder*, sometimiento que se manifiesta especialmente a la vista de la proporción, que disminuye progresivamente, entre los académicos *elegidos* de modo ordinario y los *designados* (desde el poder) por su condición de cortesanos.

Cuarta. Conviene destacar la *naturaleza pluridisciplinar*: las facultades o *tercios* de médicos, cirujanos y farmacéuticos, complementando estas profesiones sanitarias desde su origen con las ideas de química, historia natural y botánica y a partir de 1742 con física. El gobierno de la Academia era cometido de un Presidente asistido por dos directores con titulaciones complementarias de las tres profesiones sanitarias integradas en la institución. La Academia estaba concebida por los fundadores como academia sanitaria única, equilibrada entre las profesiones sanitarias (por *tercios* de médicos, cirujanos y farmacéuticos) y abierta.

SEGUNDA PARTE

LA HISTORIA CONTEXTUALIZADA: LAS ACADEMIAS SANITARIAS

6. Un hecho: la proliferación de las Academias Sanitarias

A la luz de mi concepción de academia puede afirmarse que en el segundo tercio del siglo XVIII se asiste a una intensificación del *movimiento académico* asociado a la mentalidad de los inicios ilustrados. En el último tercio del siglo este movimiento en marcha con los criterios de creciente utilidad añadidos por la ya establecida Ilustración conducirá a la floración de nuevas instituciones, también

considerables como académicas, pero con la denominación de Sociedades Económicas de Amigos del País. En el siglo XIX recibirán otro impulso las denominadas de nuevo academias, pero esto sale de nuestro marco actual.

En este contexto nacen diferentes *tertulias* y *academias* relativas al ámbito de las profesiones sanitarias. Así, en el caso de Madrid se tienen noticias, al menos, de cuatro que pueden considerarse relevantes: 1) una academia inicialmente de carácter sanitario general que se constituirá como Academia Médica Matritense en 1734, considerada antecedente de la nuestra; 2) una academia farmacéutica que se constituirá en Real Colegio de Profesores Boticarios en 1737, considerado antecedente de la Real Academia Nacional de Farmacia; 3) una academia de Cirugía que se constituirá en Real Colegio de Profesores Cirujanos en 1747; y 4) una academia propiamente médica que permanecerá como Sociedad Médica de la Real Hermandad de María Santísima de la Esperanza a partir de 1746.

7. La Real Academia Médica Matritense: sus actividades y decadencia

En la Primera Parte de este estudio, «*La historia intrínseca*», se han analizado los instantes supuestamente originales de la Real Academia Médica Matritense en sus aspectos prioritariamente formales. Ahora, para facilitar el contraste posterior con las otras instituciones sanitarias coetáneas, reflejaremos sus quehaceres, sus actividades, las que le darán el sello de academia, a ella como a otras independientemente de la denominación que empleen o que se les otorgue. Pero este punto se desarrollará desde la perspectiva de la historia intrínseca. En los próximos apartados se analizará desde las perspectivas de las otras instituciones.

7.1. Actividades *ordinarias* y *especiales*

La Academia Matritense organizaba unas *actividades ordinarias* que estaban integradas por 'Actos literarios' o 'Juntas literarias', 'Lecciones de anatomía' y Actos públicos anuales.

Había otro tipo de quehaceres que pueden considerarse como *actividades extraordinarias* o *especiales* como las siguientes.

a) Un sugerido Proyecto de «Bosquejo para la historia natural de España» para la escritura de una «Historia Natural y Médica de España», con el inicio de unas *Efemérides barométrico-matritenses*.

b) La *Pharmacopoeia Matritensis* en 1739 aunque no queda clara la autoría institucional de la misma.

c) Desempeño de cierto papel respecto al Real Jardín Botánico.

La crisis de la Academia Médica Matritense se desata, según las ideas expuestas por las *historias intrínsecas*, precisamente en 1752 con el nombramiento como Vicepresidente de Andrés Piquer, catedrático de la Universidad de Valencia, que es reclamado por Fernando VI como médico de cámara en 1751. El rechazo de la Academia se expresó en el «abandono de la Institución» de bastantes de sus miembros y la «interrupción de las Juntas Literarias». Esta suspensión de las 'Juntas literarias' de la Academia darían valor a las que sí celebra en estos años la Sociedad Médica de la Esperanza.

7.2. Causas iniciales de la decadencia

PRIMERA.—El desaliento ante la sumisión al Protomedicato y al presidente perpetuo, que significa una lamentable pérdida de libertad y capacidad de decisión.

SEGUNDA.—El valor muy secundario de la 'academia' para los integrantes del Protomedicato que son *designados* y el primario de los ordinarios, *elegidos*, doble situación de origen que genera una descazada división en clases.

TERCERA.—La carencia de sede y de auxilios económicos.

CUARTA.—La dependencia del trabajo personal, de entrega casi total, de Joseph Hortega, el boticario creador, secretario perpetuo.

QUINTA.—El difícil cumplimiento de las tareas especiales formalmente asumidas en principio relacionadas con Farmacia, Química, Botánica e Historia Natural.

SEXTA.—El desequilibrio progresivo de los 'tercios' de académicos de las 'tres Facultades': médicos, cirujanos y farmacéuticos, ante la 'invasión' de médicos con cargos en la Corte.

7.3. Causas posteriores que conducen a la profunda crisis

PRIMERA.—La proliferación de academias sanitarias, con la cara positiva del fenómeno asociado al movimiento académico generado

por la Ilustración, pero negativa para la única Academia sanitaria inicialmente existente en Madrid.

SEGUNDA.—Esta proliferación puede considerarse también consecuencia de la progresiva desatención generalizada a la Academia desde el Poder y, consecuentemente, desde dentro de la Academia a las tres 'profesiones'. (No hay error, a las *tres*).

TERCERA.—La creación del Real Colegio de Boticarios, precisamente con Hortega como pieza fundacional del mismo, en fecha tan temprana como 1736 y promulgada la R. C. de creación en 1737, asumiendo oficialmente el Colegio los ámbitos de Farmacia, Química, Botánica e Historia Natural y acumulando hacia el futuro el Jardín Botánico y el Laboratorio Químico.

CUARTA.—Abandono progresivo de las sesiones por los académicos; lógicamente los 'oficiales' por falta de interés, y los 'ordinarios' por creciente desilusión.

QUINTA.—La creación del Real Colegio de Cirujanos, 1746-47, supuso otro duro golpe, como manifestación de la ruptura largamente larvada entre las profesiones de médicos y cirujanos, también dentro de la Academia.

SEXTA.—La puesta en funcionamiento, en el propio año 1746, de una nueva 'academia' de médicos, la Sociedad Médica de la Esperanza, contra la que ejerce la Real Academia Médica Matritense todo tipo de presiones, judiciales y extrajudiciales, para evitar que se constituya.

8. El Real Colegio de Profesores Boticarios

8.1. *Acerca del origen de la Real Academia Nacional de Farmacia*

El 21 de agosto de 1737 por Real Cédula de Felipe V se crea el Real Colegio de Profesores Boticarios de Madrid.

Una profesión de cierto relieve intelectual bien consolidada en la época que nos ocupa (el entorno temporal de 1733) era indudablemente la farmacia, la de los boticarios.

En esta tesitura puede decirse que, a fin de cuentas, el Colegio de Boticarios se crea sólo tres años después del 1734 en que formalmente se constituye la Academia Médica Matritense, pero así como ésta surge aparentemente desde la nada el Colegio tenía claros antecedentes *propios* en Cofradías o Congregaciones de la profesión

farmacéutica. Y se pone énfasis en que desde su origen, la creación del Real Colegio de Boticarios, se conserva «el espíritu de su fundación: cultivo y adelantamiento de la Farmacia, Química, Botánica e Historia Natural».

Surge firmemente el deseo, que será común, pues, a la Academia Médica y al Colegio de Boticarios, de la asimilación de estos ámbitos distintos formalmente de la medicina y cirugía. Al mismo tiempo que la Academia se especializa en lo propiamente médico, por reducción de otros profesionales y de dichos contenidos, el Colegio iría asumiendo, progresivamente los ámbitos de Química, Botánica e Historia Natural.

8.2. Análisis 'académico' de los Estatutos fundacionales

La pregunta radical que cabría hacer es ésta: ¿Puede considerarse el Colegio como 'Academia'? Nuestra respuesta es netamente afirmativa; las notas caracterizadoras de la naturaleza académica del Colegio de Boticarios, a la luz de sus Estatutos, son las siguientes.

PRIMERA.—La *finalidad*, que se plasma en el Estatuto I: «El Fin primario e Idea general del Colegio de Boticarios de Madrid, será el cultivo y adelantamiento de la Farmacia, Química, Botánica e Historia Natural: para lo cual se formará un Jardín Botánico, y un Laboratorio Químico, donde públicamente se hagan todos los años por sus Colegiales un Curso de Operaciones Químicas, y otro de Lecciones, y Demostraciones de Plantas, y Drogas Exóticas».

SEGUNDA.—A los efectos de la composición se impone como *condición de calidad* que los miembros sean «Profesores Farmacéuticos, los cuales estén examinados por el Real Protomedicato» (Estatuto II).

TERCERA.—Absoluta *autonomía* en el nombramiento de todos los cargos. «Los empleos necesarios, y precisos para el buen orden, y gobierno del Colegio, serán un Director, dos Diputados, o Vice-Directores, un Secretario, un Fiscal, un Tesorero, y un Contador, los cuales se elegirán el primer día de cada año, por votos secretos de los Colegiales» (Estatuto III). En contraste con la Academia Médica Matritense no preside el Presidente del Protomedicato.

CUARTA.—Canto a la *libertad* absoluta de los académicos (que formalmente no dependen de ninguna otra institución: «El director presidirá y gobernará las Juntas ordinarias y extraordinarias [...] para

que se diga con libertad, lo que a cada uno le parezca más útil» (Estatuto IV).

QUINTA.—Canto a la *antigüedad*. «El director mandará convocar las Juntas ordinarias, y extraordinarias; y si dejare de asistir por indisposición, u otro motivo, ocupará su lugar, y tendrá sus veces el Diputado más antiguo» (Estatuto V). Para el orden de colocación en las Juntas, después de los directivos «los demás Colegiales, según su antigüedad» (Estatuto XXXIII).

SEXTA.—Organiza «actos literarios» en tanto que actividades ordinarias (Estatuto XXV) a los que «Todos los Colegiales estarán precisados a asistir a las Juntas Generales, y Literarias, de modo que ninguno pueda hacer falta, sin exponer excusa legítima» (Estatuto XXVI). Y aún más: «Todos deberán hablar» (Estatuto XXVIII).

SÉPTIMA.—Actividades extraordinarias o especiales. «El Colegio tendrá por ahora, e ínterin que se establece el Jardín Botánico, y el Laboratorio Químico, que se ha prevenido en el Estatuto primero [...] y cuando se logre aquel Establecimiento, se ejecutará el Curso de Operaciones Químicas y el de Lecciones y Demostraciones de Plantas, y Simples Exóticos» (Estatuto XXIV).

OCTAVA.—Apertura a los 'afines'. Expresamente a los profesionales sanitarios.

NOVENA.—Signo distintivo y 'mote': *Medicamenta non mella*.

Estas nueve notas caracterizadoras constituyen un conjunto de condiciones típicamente académicas y que no reflejan de ninguna manera la colegiación de intereses de una profesión en cuanto tal. Pero, no obstante, aparece formalmente como 'Colegio' y no como 'Academia'. Poco interés tiene el Poder, los poderes, por la Academia Médica Matritense, pero no consentirán (ni el poder ni ésta) que otras instituciones porten dicha denominación.

8.3. Las *Farmacopeas Matritenses*

En aquellos momentos, 1737, está en marcha la confección de la *Farmacopea Matritense*. Y parece que están encargadas de ello la *Regia Sociedad de Medicina de Sevilla* y la *Academia Médica Matritense*. Pero un tema fundamental por dilucidar para escribir las historias correctamente es el de las ediciones primeras (1.^a y 2.^a) de las *Farmacopeas*.

En el ámbito de las actividades de la Academia Médica Matritense de estos primeros años se considera como una empresa propia de

la misma la redacción de la *Pharmacopoeia*: «El segundo empeño cumplido por la Academia fue la preparación de la primera codificación de los recursos farmacológicos, editando la *Pharmacopoeia Matritensis* en 1739».

Como contraste, harto significativo, puede leerse en las historias de la Real Academia Nacional de Farmacia que «El año 1738, uno después de su fundación, el Real Colegio fue autorizado por el Real Protomedicato para publicar la primera edición de la *Farmacopea Matritense*».

Sin embargo, la realidad es que formalmente se trata de una obra del Protomedicato en la que debieron participar, lógicamente, las instituciones sanitarias existentes, pero, aunque sólo fuera por la mayor disponibilidad de los miembros del Colegio y mayor especialización en el tema, la participación de éste pudo ser mayor que la de la Academia Médica Matritense y la Regia Sociedad de Sevilla. Teniendo esto en cuenta tampoco hay que olvidar, por aquello del abuso de poder y/o por pleitesía al poder, que desde todas las instituciones implicadas parece coherente la dedicación de la obra al Presidente del Protomedicato, José Cervi, a la sazón también presidente de la Academia Médica Matritense y de la Regia Sociedad Médica de Sevilla.

En 1757 se establece un Convenio entre el Colegio de Boticarios y el Protomedicato por el que se le concede al Colegio la impresión de la Segunda edición de la *Farmacopea*. En período de vitalidad del Colegio Farmacéutico Matritense y de crisis de la Academia Médica Matritense, la obra se presenta en 'actos públicos' en el año 1762 en las Reales Academias de la Historia, de Nobles Artes de San Fernando y de la Española, en la intelección de que son sus 'mayores' y sólo ellas, sin que se disponga de ningún documento análogo relativo a la Médica.

9. El Real Colegio de Profesores Cirujanos

9.1. Acerca del origen del Colegio de Cirujanos

Puede partirse del hecho reconocido de la composición de la Tertulia y posterior Academia Matritense con las «tres profesiones: médicos, cirujanos y farmacéuticos», inicialmente casi equilibradas y progresivamente descompensadas a favor de la presencia de mé-

dicos. Esta descompensación progresiva, unida a otros factores, favorecería que surgieran nuevos intereses académicos por parte de boticarios y cirujanos.

En la *perspectiva intrínseca* de la Académica Matritense se refiere la existencia de una ‘academia’ de Cirugía con la que la Academia Matritense tiene algunas tensiones por su existencia y en sus relaciones. Los cirujanos, como diez años antes los boticarios, se acoplaban a la denominación ‘Colegio’, ya bien establecida para el caso del Colegio de Boticarios; por tanto, sin pretensiones, parece ser, de denominarse ‘academia’, de tal modo que se solventaron posibles nuevas diferencias. En 1747, recién ascendido al trono Fernando VI, y estando aún en la inercia del reinado anterior, se crea el Real Colegio de Profesores Cirujanos de Madrid y se le otorga la Protección Real. El proceso de constitución en Colegio-‘academia’, aunque más tardío y más lento, ha seguido la senda del de los boticarios: progresiva ruptura con los médicos y la Academia Médica Matritense que no les da el cobijo necesario y satisfactorio para ellos.

9.2. *Las consecuencias para la Academia Médica Matritense*

La Academia Médica Matritense había perdido en 1737, con la creación del Colegio de Boticarios que las asumen, la Farmacia, la Química, la Botánica y la Historia Natural, y con ellas el Jardín Botánico y el Laboratorio Químico. Esto durante la presidencia de Cervi (reinado de Felipe V). Ahora, diez años más tarde, 1747, y en plena decadencia de contenidos y de ánimos, en crisis latente como la estamos denominando, y bajo la presidencia de Suñol, la Academia Médica Matritense si no pierde al menos ha de compartir, con la creación del Colegio de Cirujanos, la Cirugía y la Anatomía. En consecuencia, la Academia Médica Matritense pierde por cesión oficial a las nuevas instituciones ‘académicas’, los Colegios de Boticarios y de Cirujanos, los ámbitos de Farmacia, Química, Botánica e Historia Natural, y de manera parcial Cirugía y Anatomía. Es decir, se encuentra en crisis galopante de carencia de contenidos, aparte de poca libertad. Y aún no ha llegado el año 1752 y con éste los «años oscuros» de carencia de actas y documentos en el Archivo. La crisis es total.

9.3. Análisis 'académico' de los Estatutos fundacionales

Del análisis pormenorizado de los Estatutos fundacionales del Real Colegio de Cirujanos desde una perspectiva 'académica' pueden destacarse como notas características las siguientes.

PRIMERA.—La *finalidad* se plasma en el Estatuto I: «El fin primario, y principal del establecimiento del Colegio de Cirujanos de Madrid, es para cultivar sólidamente la Cirugía, y Anatomía por medio de la Observación, y Experiencia, y asimismo para promover su adelantamiento, y perfección por el mismo camino».

SEGUNDA.—Las Juntas literarias (Estatuto II) o 'ejercicios literarios' (dos o más al mes) no tendrán como objeto primordial llevar una Memoria escrita para la exposición y discusión, sino «una Observación de Cirugía o Anatomía [...] con razones fundamentales sacadas directamente de los hechos prácticos de la misma Observación, o con Experimentos, que confirmen el método, y práctica».

TERCERA.—En tanto que actividad especial pero ordinaria, las Disecciones Anatómicas se harán continuamente en el Teatro Anatómico del Hospital General. (Estatuto III).

CUARTA.—Obligatoriedad de asistencia (Estatuto VII).

QUINTA.—Su gobierno está en situación intermedia entre la Academia Médica Matritense (de sumisión extrema) y el Colegio de Botánicos (de libertad máxima). Se opta por una situación intermedia: un Presidente perpetuo, que es el primer Cirujano de S. M., y un Director. El presidente y el secretario son perpetuos. El resto elegidos, por votación secreta, cada tres años (Estatuto XV).

SEXTA.—Canto a la antigüedad (Estatuto XVII): «Los Colegiales en una y otra banda, según la antigüedad de entrada en el Colegio y no por otro respeto».

SÉPTIMA.—Los candidatos al ingreso presentarán una Memoria. La metodología para el ingreso de 'colegiales' es similar a la de las academias: discurso de ingreso de los aspirantes.

OCTAVA.—Signo distintivo y 'mote': *Vitae pro munere redit*.

10. La Sociedad Médica de la Esperanza

10.1. A modo de relación con lo anterior

Paralelamente, 1746, a la acción pro academia propia de los cirujanos tuvo lugar otra gestión-desafección, ésta más grave si quie-

re considerarse así, por tratarse de médicos suficientemente representativos que manifiestan también su estado de disconformidad poniendo en funcionamiento otra 'academia médica'. La Real Academia Médica Matritense se 'subleva' adoptando una actitud presuntamente de defensa de sus privilegios que considera exclusivos: médica, academia y regia. Estos médicos aspirantes a ser 'académicos' por otra vía se tendrán que conformar con el término Sociedad, por supuesto que deciden sea Médica y no disfrutarán, al principio, de la condición de Regia o Real. Pero ahí estará conviviendo y superando desde la relativa *privacidad* a la *oficialidad*. Y las dos pretenden hacer lo mismo, sólo que la nueva hace más y mejor durante unos lustros.

En las *historias intrínsecas* se ofrecía (Granjel, 2006, 46), como noticia difusa, la posible existencia (o intento de creación) de «otra» 'academia' médica en Madrid:

«Un suceso, tampoco esclarecido por carencia de documentación [...] la creación en Madrid de una Sociedad Médica que aspiraba a lograr el rango de Academia; la Matritense se opuso a aquella pretensión por considerar suponía intromisión en un campo de actividad profesional en el que se consideraba con derechos exclusivos. Un acta de su Junta de Gobierno alude a la reunión de médicos y cirujanos de Madrid celebrada el 12 de mayo de 1746 en el Convento de las Recogidas».

10.2. *La existencia de documentos relevantes*

No obstante, desde la *perspectiva extrínseca relacional* en que deseamos movernos estamos en condiciones, por conocer algo de documentación suficientemente significativa, de iniciar la construcción de la historia de esta *Sociedad Médica*, y desde ella, iluminar un poco más la historia de la primitiva Academia Matritense.

He aquí una primera relación para la construcción de esta *historia contextualizada*.

UNO.—En nuestras pesquisas en torno a la figura del ilustrado de El Puerto de Santa María Juan Luis Roche habíamos 'descubierto' indirectamente, por su condición de académico honorario, la existencia de una muy deseada «Academia de Medicina de la Esperanza» de Madrid en los primeros años 50 del siglo XVIII.

DOS.—En el Archivo de la Real Academia Nacional de Farmacia se encuentra un catálogo, «Serie de los Actos Literarios» de la Academia de la Esperanza de 1760.

TRES.—Profundizando por esta vía dí con el libro *Medicina Científica Mutisiana* en el que con referencia al documento anterior del Archivo de la Real Academia Nacional de Farmacia se da publicidad precisamente al discurso de ingreso de Mutis en dicha Sociedad, y que se presenta como «estudio elaborado a partir de un documento médico inédito de José Celestino Mutis y Bosio, escrito en Madrid en 1759 y conservado hoy en el Archivo Histórico Javeriano de Bogotá».

CUATRO.—Con una intromisión y elaboración a través del Catálogo Colectivo del Patrimonio Bibliográfico Español y del Catálogo Cisne de la Biblioteca Complutense de Madrid, a partir de aquí nuevos documentos han ido 'apareciendo', por lo que la osadía y la heterodoxia, que de ordinario explicitamos en estos trabajos de carácter histórico, se van limando por las sendas de la documentación, que de momento es escueta aunque más que suficiente para nuestro interés, y, además, promete ser significativa. Así, destaquemos algunos de los primeros.

1) Las «Constituciones de la Sociedad médica de la Real Congregación de Nuestra Señora de la Esperanza, protegida del serenísimo señor Infante Cardenal, aprobadas por su alteza» del año 1747. Ante el rechazo de 1746 de la consideración formal de 'academia' y del título de 'Regia' optaron por el camino del Infante Cardenal, un año después de la trifulca con la Matritense.

2) «Disertaciones physico-medicas, premiadas por la Sociedad Médica de Nuestra Señora de la Esperanza a la pregunta hecha por dicha Sociedad el año 1750 por qué siendo el regular domicilio de las lombrices el canal intestinal, producen picazón en las narices?» editada en la imprenta de Antonio Pérez de Soto en 1751.

3) «Respuesta del Doctor Don Pedro Lorente, Médico ... a la pregunta, qué hacen los señores médicos socios, establecidos en Madrid en la Real Congregación de Nuestra Señora de la Esperanza, la qual es Por qué siendo el regular domicilio de las lombrices el canal intestinal, comúnmente producen picazón en las narices?», editada en Madrid por Antonio Marín en 1750.

4) «Respuesta a la pregunta que hacen los señores médicos socios, establecidos en Madrid en la Real Congregación de Nuestra Señora de la Esperanza, ... Por qué siendo el regular domicilio de

las lombrices el canal intestinal, comúnmente producen picazón en las narices?», editada en Zaragoza por Francisco Thomas Revilla.

5) «Actas del año segundo de la Sociedad Medica de Nuestra Señora de la Esperanza: en que se publican las disertaciones premiadas en el año de 1751 a la pregunta: por qué las preñadas comúnmente aborrecen muchos alimentos que antes de la preñez les eran agradables y apetecen otros ...», editado en Madrid, en la oficina de Domingo Fernández de Arrojo en 1754.

6) «Disertación médico-clinica-politico-forense: por la que se manifiestan las principales materias, en las que deben ser instruidos los Practicantes de Medicina ... / que comunicó à la Real Sociedad Médica de Ntra. Señora de la Esperanza de ... Madrid, el Dr. D. Francisco Zerdán ...; va añadida al fin una rara observación, sobre el Methodo de curar las enfermedades, que dependen de la vehemente imaginación ...», editada en Murcia por Felipe Teruel, 1766. He consultado el ejemplar existente en la Biblioteca General de la Universidad de La Laguna.

7) «Disertación físico-medica sobre el buen uso y seguras virtudes medicinales de las Fuentes minerales existentes en las cercanías del Convento de S. Joseph del Cuervo, de RR. PP. Carmelitas Descalzos / escrita por D. Joseph Miravete y Martinez ... de la Real Sociedad Medica de Ntra. Señora de la Esperanza, establecida en Madrid y médico en Cádiz», impreso en Cádiz en caja de Don Francisco Rioja, frente de Candelaria, 1770.

Este conjunto de documentos nos informan acerca de la existencia de la Sociedad Médica que sobrevivió, al menos desde 1746 a 1770. Y mientras tanto la oficial en la 'oscuridad'.

10.4. *Consideraciones de interés*

Este conjunto de datos históricos documentados facilita las consideraciones siguientes.

PRIMERA.—En 1746 se ha creado la 'academia' Sociedad Médica de la Esperanza con la aspiración de lograr dicha 'denominación' de forma oficial, que no consigue, pero con el 'rango' indiscutible de 'academia'. No conviene confundir 'denominación oficial' con 'rango'.

SEGUNDA.—La reunión inicial en el Convento de las Recogidas, año 1746, quita dudas acerca de la *asociación* de que se trataba, ya que 14 años después se anuncian las sesiones *académicas* (cuesta tra-

bajo llamarlas *societarias*) de finales de mes de esta Sociedad Médica precisamente en este Convento de las Recogidas. En él debe situarse la Sala de Juntas que se cita en el libro referido de 1766. En síntesis, tiene sede.

TERCERA.—El *contencioso formal* —denominación de ‘Academia’ y título de ‘Regia’— quedó resuelto en 1746 a favor de la Matritense, pero el *contencioso real* quedó establecido mediante la coexistencia de dos instituciones de contenido, fines y actividades similares —las usuales académicas— aunque con una radical diferencia: para una, el predominio de la libertad voluntarista con las enormes dificultades inherentes; para la otra, el fundamento legal de lo oficial con la seguridad de lo casi exclusivamente público pero con un sometimiento radical al poder que la esteriliza. Lo verdaderamente sorprendente, en perspectiva histórica, fue el triunfo de la libertad casi sin medios oficiales frente a la seguridad del poder durante tantos años, pues pocas veces algo de esta naturaleza ‘privada’ en aquella época podría triunfar con tan larga duración. En todo caso, en 1766 disfrutaba ya, según constata el libro comentado, de la Protección Real.

CUARTA.—En síntesis, y en forma de metáfora, podemos decir que en el período 1746-1766 (cuando menos), la luz académica médica transita de la ‘Academia pública’ hacia la ‘Academia privada’.

QUINTA.—Del análisis de los tres «catálogos» referenciados (Cervi, 1744; Suñol, 1752; Esperanza, 1760) puede observarse que las actividades de la Matritense (antes de los «años oscuros») y las de la Esperanza (durante los «años oscuros» de la Matritense) eran precisamente análogas, los ponentes prácticamente análogos o equivalentes, y la programación con una idéntica estructura. Estas consideraciones permiten suponer en última instancia, como hipótesis plausible, una especie de sustitución de la Academia Médica Matritense por la de la Esperanza, que celebraba sus «actos literarios» precisamente los jueves.

SEXTA.—Complementariamente puede destacarse que los tres máximos responsables formales: Cervi, Suñol, Fernández de Lozoya; presidente los primeros, director el tercero, eran también socios de la Regia Sociedad de Sevilla que, al menos aparentemente sin duda, consideraban tan importante o más, en aquellas fechas, que las madrileñas.

SÉPTIMA.—La Sociedad Médica de la Esperanza tenía, entre otras, estas características: 1) establecida en la Corte, en Madrid; 2) Con la protección inicial del Serenísimo Señor Infante (no la del Rey);

3) Su director (no presidente) Antonio Fernández de Lozoya se presenta como «Socio de la Regia Sociedad Médica de Sevilla, Decano, y primitivo Fundador de ella»; y 4) Con la finalidad del «adelantamiento de la Medicina, y Cirugía, para la mayor utilidad de la salud pública», rasgo característico de las academias médicas.

OCTAVA.—En el Catálogo de la Sociedad se relacionan, como hemos anticipado, los «Individuos honorarios», categoría asociada a los que no residían en Madrid y que hoy denominamos 'Correspondientes', de los que la mayoría son médicos y cuyas breves biografías informan de la distribución geográfica y caracteres de los mismos.

NOVENA.—Por lo que respecta a la Sede resulta de interés reproducir el párrafo final del Catálogo: «Se advierte a todos los Facultativos y Aficionados a las letras, sean, o no Profesores, que a todos los Actos aquí expresados pueden concurrir a disputar, dudar, argüir, ó en la forma que gustaren; entendidos que son los jueves, a las seis de la tarde, en casa del Doct. Don Antonio Fernández de Lozoya, Calle del Espejo, Casas de Familia del Excelentísimo Señor Duque de Alburquerque, a excepción de los últimos jueves del mes, que son en nuestra Sala de la Real Casa de Recogidas». Es decir, en «nuestra sala», al menos apariencia de Sede, bastante más que el hecho de las celebraciones anatómicas por la Matritense en el «Teatro Anatómico» del Hospital General.

DÉCIMA.—Penetrando un poco más en la búsqueda de noticias de la misma se dispone del texto de la conferencia de ingreso de Mutis en esta Sociedad en 1760, unos meses antes de marchar a América, con comentarios críticos de la misma. Se anuncia para el jueves 20 de noviembre a «Don Joseph Celestino Mutis, Médico, y Cirujano en esta Corte, sustituto en la Cátedra de Anatomía del Hospital general, y socio de número, disertará sobre la irritabilidad y sensibilidad de las partes del Animal». El hecho citado de la participación de Mutis el 1.º de enero, como discurso de ingreso, sugiere que debió ser elegido en 1759 y ante su decisión de marchar a América anticipó la fecha de su discurso de ingreso.

INTERVENCIONES:**Prof. Rodríguez Rodríguez**

Yo creo que es una magnífica aportación la que nos ha presentado el Prof. González de Posada a nuestra Academia. Algunos detalles que quisiera significar, no es lo mismo para aquella época Regia que Real, Regia entonces significaba utilización de sello, potestad de imprimir pero no autofinanza, eso es lo que da la categoría de Real a las otras Academias, y Academia no es lo mismo que Sociedad, no es lo mismo que Colegio, es decir, hay una diferencia fundamental a mi modo de entender que aunque no sepamos muy bien lo que es una Academia lo que si sabemos es lo que no es, es decir no es un agrupación profesional, no son boticarios en defensa de su profesión, no es gremial, no es Real Colegio de Cirujanos por la Cirugía, sino que es una Entidad fundamentalmente cultural que lo que intenta es cambiar y definir, o cambiar la cultura intentando definir que tradición no es verdad igual que en nuestro siglo actual diríamos que razón no es verdad. Otra cosa que quisiera diferenciar es que claramente, lo ha dicho muy bien el conferenciante, que lo que imprime es libertad e independencia, esa es la tesis de todas las Real Academia Nacional de Medicina, desde entonces y desde ahora, lo que pasa es que le ponen una cortapisa grande, como ha dicho, que es el poder, la potestad, la autoridad, que son los propios medicatos, es decir, la realeza que no quiere, o los que andan alrededor de la realeza, que no quieren dejar esa potestad. Lo que sucede es que en la Real Academia Nacional de Medicina, yo creo que siempre el Presidente siempre dejó hacer, fue con poca identidad en el hacer de la Academia, en cambio por decirlo de alguna manera, el consejero delegado, el ejecutivo, el que actuaba era el Vicepresidente, que era el elegido, y por otra parte, ha dicho una cosa muy bonita que es la de la Sociedad Médica de Nuestra Señora de la Esperanza, la Sociedad Médica de Nuestra Señora de la Esperanza intenta ser Academia como la Matritense y tiene una gran diatriba y digamos que pierde la Sociedad de Ntra Sra de la Esperanza, frente a lo que es la Real Academia Nacional de Medicina, por el carácter regio de entonces, no por el carácter real, lo cual no quiere decir que no publicara, yo le puedo aportar un libro que tengo del Balneario de Archivo que es escrito, publicado por la Real Sociedad de Ntra Sra de la Esperanza y donde desdeluego figura el

Milosta, etc., como se publicaba entonces y se acreditaba. No sé si he dicho algo, no sé si tengo que preguntar algo, pero quiero decir lo que siento de verdad, por lo que yo también he leído de la Real Academia Nacional de Medicina. Enhorabuena, muchas gracias por lo que nos has traído, muchas gracias.

Prof. Campos Muñoz

Por supuesto felicitar al Prof. González de Posada por ayudarnos a entender el contexto en el siglo XVIII donde aparecen todas estas estructuras sanitarias tan importantes en el desarrollo posterior de nuestro país en muchos casos. Mi pregunta es la siguiente, sabemos que el Real Colegio de Cirugía de Cádiz, 1748, surge como impulso de reforma de la enseñanza de la Medicina, es fundamental donde se va a hacer una medicina científica y donde la cirugía alcanza una práctica, una habilidad, una destreza en sus practicantes, donde sus alumnos son enviados al exterior a trabajar con Hunter, en distintos países, como los actuales Erasmus, podemos decir así, y evidentemente es un impulso de mejora, ¿qué relación tienen todas estas Sociedades, Academias, organismos que nos acaba de citar, con la Universidad de entonces, muy deteriorada en aquella época, pero tenían algún tipo de relación?, yo desconozco esa relación, me gustaría si nos puede informar sobre ello.

**ARTROPLASTIA TOTAL:
LAS OTRAS SUPERFICIES; DESGASTE
Y OSTEOLISIS**

***TOTAL ARTHROPLASTY: THE OTHER SURFACES.
WEAR AND TEAR AND OSTEOLYSIS***

Por el Ilmo. Sr. D. LUIS MUNUERA MARTÍNEZ

Académico Correspondiente Honorario

Resumen

La artroplastia total continua siendo una solución eficaz para las grandes articulaciones afectas de enfermedades degenerativas, inflamatorias y postraumáticas y facilita a los pacientes una calidad de vida muy satisfactoria. Aunque en las últimas décadas se han introducido innovaciones en biomateriales, diseño de los implantes y técnicas quirúrgicas, se siguen observando fracasos al cabo de algún tiempo tras la intervención. La mayor parte de ellos están relacionados con el desgaste de alguno de los componentes. La erosión de los materiales produce partículas que desencadenan reacciones inflamatorias y osteolíticas con la consiguiente movilización del implante. En estos casos se hace necesario recambiarlo y la intervención es más compleja, tiene más complicaciones y peor pronóstico que la primera.

Se ha realizado una revisión del problema, incluyendo algunas contribuciones del Laboratorio de Fisiopatología Ósea y Biomateriales (HU La Paz), sobre las características específicas de las partículas y los mecanismos celulares y moleculares de la respuesta biológica en las líneas osteoclástica y osteoblástica. Se describe la aparición de osteolisis como una modificación patológica del remodelado óseo en el que la interacción osteoblasto-osteoclasto tiene un papel fundamental. El conocimiento actual de los mecanismos celulares y moleculares ha propiciado la investigación de factores para el tratamiento «biológico» (no quirúrgico) de la osteolisis.

Abstract

Total replacement remains a successful solution for degenerative, inflammatory and postraumatic diseases in large joints. This treatment has considerably improved the quality of life of the patients. Despite recent innovations in biomaterials, implant design and surgical technique, there are still failures, most of them related to wear at the surface of some component. Particles are generated that produce inflammatory and osteolytic reactions leading to implant loosening. In that case, revision surgery is mandatory to remove and substitute the worn component. The operation is far more difficult and costly, has a higher rate of complications and a worse outcome than the initial surgery.

This general review of the problem is focused on the specific features of wear particles and the cellular and molecular mechanisms of the biological reactions in the osteoclastic and osteoblastic pathways. Osteolysis is described as a pathological modification of normal bone remodeling with the interaction between osteoblasts and osteoclasts as the main feature. We include some contributions of our laboratory at H U La Paz.

Having reached an advanced identification of the molecular factors involved in wear osteolysis, many research groups are trying to develop potential «biologic» (non surgical) therapies for the prevention and treatment of bone loss.

INTRODUCCIÓN

Los progresos alcanzados en la ciencia de los biomateriales han dado lugar a lo largo de los últimos cincuenta años a uno de los mayores logros de la Cirugía Ortopédica: la sustitución articular mediante prótesis internas, «joyas de la corona» de esta especialidad. Este avance de la llamada bioingeniería estructural ha contribuido a mejorar la calidad de vida de miles de pacientes portadores de alteraciones degenerativas, inflamatorias y postraumáticas de cadera, rodilla y hombro especialmente (1). Se calcula que en España se implantan unas 50.000 artroplastias de rodilla y unas 35.000 de cadera al año. Como cualquier producto artificial, estos implantes tienen una vida útil limitada que oscila entre 15 y 30 años según las series publicadas de estudios a largo plazo (2). Superados muchos de los problemas de la fijación estable en la ineficaz implante-hueso, las superficies deslizantes entre los componentes que sustituyen las superficies de las articulaciones enfermas son todavía origen de algunas complicaciones que conducen en ocasiones al fracaso de la artroplastia y a la necesidad de un recambio. Estas intervenciones secundarias son frecuentemente de gran complejidad, no están exen-

tas de complicaciones y, aun en los mejores casos, acortan la vida útil del nuevo implante.

Esta contribución pretende analizar los mecanismos celulares y moleculares que conducen a la aparición de las respuestas biológicas desencadenadas por los productos derivados del desgaste de las superficies protésicas de deslizamiento, sus efectos en la interfaz hueso/implante y las estrategias potenciales para el tratamiento biológico de la osteolisis misma.

DE LA ENFERMEDAD DEL CEMENTO A LA ENFERMEDAD DE LAS PARTÍCULAS

La introducción por John Charnley de su artroplastia total cementada de «baja fricción» supuso el comienzo de una nueva era en la reconstrucción de las enfermedades de la cadera (3). El biomaterial utilizado para el componente acetabular fue un polietileno de alto peso molecular, tras algún intento fracasado con los diseños de politetrafluoretileno. El componente femoral se fabricó con acero inoxidable 316-L. La fijación de ambos componentes, femoral y acetabular se confió a un cemento óseo, el polimetilmetacrilato. Los resultados de las primeras series publicadas fueron muy satisfactorios funcionalmente y con una «supervivencia» útil de larga duración. Al cabo de algún tiempo comenzaron a referirse algunos casos de movilización del implante llegando al fracaso final, especialmente en pacientes jóvenes y con actividades intensas. En los estudios radiográficos se comprobó que junto a las líneas de demarcación que acompañan habitualmente a la fijación cementada, reflejando la presencia de una fijación fibrosa estable sin osteointegración, aparecían áreas de destrucción ósea y, frecuentemente, zonas de «descementación». Estos hallazgos llevaron a la conclusión de que el «envejecimiento» del cemento acrílico y su fragmentación eran las causas fundamentales de estas complicaciones conocidas durante un tiempo como **enfermedad del cemento** (4). Estudios histológicos posteriores fueron comprobando la presencia de partículas de diverso tamaño y de variada composición (aleaciones metálicas, polimetilmetacrilato y, especialmente, polietileno de alta intensidad. Por otra parte, en implantes introducidos a partir de 1980, la sustitución del cemento por superficies porosas que permiten el crecimiento del hueso (la llamada «fijación biológica») se han seguido observando

reacciones inflamatorias similares en ausencia de partículas de polimetilmetacrilato. Desde entonces se ha pasado al concepto más amplio de «**enfermedad de las partículas**». Estas complicaciones han aparecido en todas las articulaciones tratadas con prótesis, desde la cadera y la rodilla hasta los discos intervertebrales aunque con algunas diferencias relacionadas con su biomecánica y su entorno biológico.

En las últimas décadas los avances en el diseño de los implantes, la fabricación polietilenos reticulados de ultra-alto peso molecular y la introducción de pares de superficies alternativas como cerámica-cerámica y metal-metal han reducido parcialmente el desgaste pero plantean otro tipo de problemas. Las publicaciones anteriores a 2000 señalaron porcentajes de desgaste y osteolisis entre 10 % y 70 % tras 14 años de la intervención. Según datos del Nationwide Inpatient Sample americano de 2005, el 10 % de los recambios fueron directamente atribuidos a la osteolisis. Sin embargo, más del 40 % se debieron a aflojamiento (18 %), fracturas periprotésicas (6 %), problemas mecánicos (8 %) y fracaso del implante (11 %). En realidad todos estos son probablemente consecuencias del desgaste y la pérdida ósea. Podría afirmarse que este problema no está resuelto todavía (5).

DESGASTE Y PARTÍCULAS

La aparición de desgaste en las superficies depende de varios factores. Los principales son el grosor del implante de polietileno, la congruencia entre éste y el componente metálico, la magnitud de las cargas cíclicas y las propiedades biomecánicas del material mismo. Aunque los implantes utilizados son sometidos previamente a cuidadosos procesos de pulido, mínimas irregularidades pueden iniciar desgaste por **abrasión**. Este mecanismo, asociado al de **adhesión** es más frecuente en las prótesis de cadera por ser muy congruentes. En las prótesis de rodilla, predomina el fracaso por **fatiga** debido a las cargas de cizalladura sobre las capas superficiales del polietileno. Estas particularidades diferencian la morfología y el tamaño de las partículas resultantes. En las generadas en rodilla predomina la delaminación y las partículas son de morfología fibrilar, en general, de mayor tamaño. Finalmente, la penetración de algunas partículas desprendidas y atrapadas entre las superficies inicia el mecanismo

de **tercer cuerpo** que acelera el desgaste. La generación de partículas puede ocurrir también por fricción en los micromovimientos entre hueso e implante en ausencia de osteointegración y entre las diversas partes de los implantes en los diseños modulares. Se calcula que los pacientes portadores de una artroplastia de cadera o de rodilla pueden dar unos cinco mil pasos al día y que en cada paso se generan unas cien mil partículas/día en una actividad normal.

Las partículas originadas en las superficies deslizantes pueden emigrar a distancia atravesando la pseudocápsula fibrosinovial formada por el proceso reparador postquirúrgico. Si en la interfaz hueso/implante se ha obtenido una osteointegración eficaz, el progreso de las partículas queda detenido. Por el contrario, la presencia a ese nivel de una línea de demarcación formada por tejido fibroso que permita un cierto grado de movilidad interfacial facilita la presencia a distancia de partículas impulsadas por la presión hidrostática del líquido, fluctuante en cada movimiento, a lo largo del llamado «espacio articular efectivo». La respuesta inflamatoria de los tejidos periprotésicos da lugar a una membrana de características pseudosinoviales. La diseminación de partículas en pacientes portadores de prótesis de rodilla y de cadera no se detiene en el entorno periprotésico. En un estudio de prótesis movilizadas (veintinueve post-mortem y dos biopsiados) se detectaron partículas de polietileno y titanio en hígado, bazo y ganglios linfáticos paraaórticos sin repercusión patológica aparente (6).

La **reactividad biológica** de las partículas depende de la concentración alcanzada en los tejidos periprotésicos, de la composición química, de la forma y, especialmente, del tamaño y de su superficie total. El tamaño crítico para la activación de la reacción inflamatoria iniciada en la pseudocápsula oscila entre 0,2 y 10 micras, dimensiones que permiten la internalización en las células correspondientes (7, 8). El rango más activo desde el punto de vista biológico es 0,3-1,0 micras pero probablemente las partículas submicrónicas, de más difícil detección, poseen mayor actividad. En cuanto a composición, se ha comprobado la diferencia de respuesta entre partículas de cerámica y de polietileno (9) y entre las de titanio y rutilo (10).

LA RESPUESTA INFLAMATORIA A LAS PARTÍCULAS

La liberación de productos de desgaste desencadena de inmediato su opsonización, lo que facilita la puesta en marcha del sistema inmunitario innato, no específico, a través de la acción de monocitos/macrófagos y leucocitos. En un número limitado de pacientes se detectan linfocitos activados relacionados con relaciones de hipersensibilidad diferida tipo IV.

La activación de la serie monocitos/macrófagos por las partículas tiene lugar a partir de receptores de la membrana celular del tipo CD11b, CD14 y TLT (Toll-Like Receptor). Estas interacciones conducen a la activación del NF κ B que moviliza los genes relacionados con la producción de citoquinas proinflamatorias como TNF- α , IL-6, IL-1 β , PGE-2, GM-CSF, metaloproteinasas y quimotácticas como MIP.1 α (Monocyte Inflammatory Protein-1 α) y MCP-1 (Monocyte Chemoattractant Protein-1). Estas últimas reclutan a los monocitos circulantes en la membrana interfacial. Formados en la médula ósea, su traslado a los tejidos desde las vénulas postcapilares se facilita por su adherencia al endotelio y su paso en gran número a través de la pared vascular. Una vez en los tejidos periprotésicos, los monocitos internalizan las partículas de tamaño crítico pero no pueden destruirlas por tratarse de materiales sintéticos. Sin embargo expresan una serie de señales que inician la formación de **macrófagos** y de células gigantes mediante fusión de precursores pertenecientes a la línea de fagocitos mononucleares.

OSTEOLISIS: OSTEOCLASTOGÉNESIS Y ALTERACIÓN DE LA DIFERENCIACIÓN OSTEOGÉNICA

La investigación de los mecanismos de la osteolisis inducida por partículas de desgaste se ha centrado en el proceso de destrucción presidida por los osteoclastos. Desde hace algún tiempo se viene dando importancia a su repercusión en la línea celular osteoblástica, ya que se podría calificar esta complicación como una desviación patológica del remodelado óseo fisiológico en el que intervienen ambas.

Se ha podido comprobar que existe una **respuesta individual** a la destrucción ósea en presencia de partículas de desgaste que sugiere la presencia de un componente genético en la susceptibilidad

e intensidad de la reacción. Se han estudiado diversos genes codificadores de reabsorción ósea. En un estudio clínico comparativo de 268 artroplastias de cadera con osteolisis y 341 sin ella, los portadores del alelo FRZB 200T estaban asociados negativamente con osteolisis y positivamente con osificación heterotópica (11).

El mecanismo esencial para la formación de las células gigantes y de los **osteoclastos** es la fusión de precursores mononucleares para dar lugar a una célula multinuclear. Las etapas de esta transformación son la acumulación de células precursoras, la adhesión de las células entre si y la fusión de las membranas (12). En la fusión de las células tiene un papel principal un grupo de peptidasas de las membranas que constituyen la familia ADAM (A Disintegrin And Metalloproteinase) (13). En la formación de los osteoclastos a partir de los macrófagos activados intervienen factores como M-CSF que estimulan la proliferación, diferenciación y supervivencia de estas células y actúan de manera autocrina y paracrina (14).

La demostración de la expresión incrementada de RANK y RANKL por células presentes en el tejido periprotésico, especialmente macrófagos, contribuyó a esclarecer la patogenia del proceso destructivo óseo (15). RANK (Receptor Activator of Nuclear factor kappa B) es un miembro de la familia TNF de receptores y, especialmente, es el receptor de RANKL, expresado por osteoblastos, fibroblastos y células precursoras de la médula ósea. El sistema RANK-RANKL incluye OPG (osteoprotegerina), expresada en osteoblastos y células estromales. Ésta, calificada como molécula «señuelo» inhibe la osteoclastogénesis inducida por los factores anteriores. así contribuye al equilibrio del remodelado. Por el contrario, la 1,25-dihidroxitamina D, IL-1, IL-6, IL-11, TFG- α , TNF- α y β favorecen la formación de la línea destructora. Como puede apreciarse, la comunicación entre osteoblastos portadores del ligando RANKL y la línea osteoclástica es fundamental en la regulación del proceso de formación/destrucción del tejido óseo.

Las células osteoclásticas migran gracias a la formación de podosomas. Una vez alcanzada la superficie ósea, los podosomas periféricos circunscriben un espacio hermético en el que las células segregan iones H⁺ y catepsinas. La acidificación consiguiente produce disolución de los cristales de hidroxapatita y facilita la actividad colagenolítica de las catepsinas, especialmente la catepsina K. El resultado es la formación de una «caldera» de reabsorción ósea, la laguna de Howship (16).

Diversos estudios publicados por nuestro laboratorio utilizando cultivos primarios de células osteoblásticas humanas en presencia de partículas de polietileno de ultra-alto peso molecular demostraron su efecto directo sobre diversos marcadores de la actividad funcional de estas células frente al grupo control. En medios condicionados con 1,25 dihidroxi-vitamina D se observó un aumento de la secreción de osteocalcina y de fosfatasa alcalina, factores relacionados con quimiotaxis y mineralización. Por el contrario disminuyó la expresión de procalágena tipo I C-terminal, indicadora del proceso de síntesis de la matriz orgánica del hueso (17). En estudios con partículas de otros materiales (alúmina, titanio) se observaron efectos similares (18). Estos resultados confirman una respuesta directa de la actividad de los **osteoblastos**, además del papel intermediario en la osteoclastogénesis, tradicionalmente aceptado. Recientemente se han comprobado alteraciones de la expresión del fenotipo osteoblástico en cultivos de células mesenquimales adultas de la médula ósea con partículas de titanio (19) y polimetilmetacrilato (20).

En conclusión, los efectos biológicos de las partículas de desgaste sobre los tejidos periprotésicos que conducen a la destrucción ósea se deben a la interacción de osteoblastos y macrófagos hasta la formación de osteoclastos con capacidad de destrucción del hueso. Estos efectos reducen las posibilidades de reclutamiento y maduración de las células de estirpe osteogénica.

PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA OSTEOLISIS

La idea de reducir el desgaste y la generación de partículas ha suscitado interés en la aplicación de materiales más modernos para las superficies articulares. En cuanto al polietileno reticulado, se han introducido nuevas modalidades de fabricación y de esterilización gamma en atmósfera inerte. Así se ha obtenido resistencia al desgaste. Los pares cerámica/cerámica y metal/metal, utilizados hace algunas décadas, han mejorado su eficacia gracias a las modificaciones en el diseño de los implantes. Por otra parte, las actuales superficies de fijación para la interfaz implante/hueso (hidroxiapatita, micro y nanorrugosas) logran una mayor integración y, en consecuencia, un mejor sellado que impide la migración de las partículas al eliminar el «espacio articular efectivo».

La identificación de los factores biológicos que intervienen en la

osteolisis ha estimulado la investigación de fármacos dirigidos a bloquear su acción, tras la introducción con éxito de algunos para prevenir la pérdida ósea de enfermedades generalizadas como la osteoporosis, la artritis reumatoide y las metástasis óseas. Con objeto de mejorar la osteointegración se han utilizado difosfonatos intraoperatorios y postoperatorios y agentes anabólicos como la hormona paratiroidea humana recombinante (teripratide). Otros fármacos potencialmente eficaces son los antagonistas de TNF (etanercept, infliximad, adalimumab), y de interleukina-1 (anakinra). Actualmente los antagonistas de RANKL aparecen como candidatos prometedores en el tratamiento farmacológico de la osteolisis (21). Por el momento no existen estudios de nivel metodológico suficiente para validar estas hipótesis. Por otra parte, el número de casos reclutantes es limitado (harían falta unos 200 osteolisis de >100 ml) para obtener datos significativos. Finalmente, el coste del desarrollo de un nuevo fármaco para esta indicación no justifica la iniciativa desde el punto de vista comercial dado el reducido número de pacientes con osteolisis.

BIBLIOGRAFÍA

1. LAPAUCIS, A.; BOURNE, R.; RORABECK, C. y cols. «The effect of elective total hip replacement on health-related quality of life». *J. Bone Joint Surg Am*, 1993; 75:1619-1626.
2. CALLAGHAN, J. J.; TEMPLETON, J. E.; LIU, S. S. y cols. «Results of Charnley total hip arthroplasty at a minimum of thirty years. A concise follow up of e previous report». *J. Bone Joint surg Am*, 2004; 86A:690-695.
3. CHARNLEY, J. «Arthroplasty of the hip». *Lancet*, 1961; 1:1129-1132.
4. WILLERT, H.-G.; LUDWIG, J.; SEMLICHST, M. «Reaction of bone to methacrylate after hip arthroplasty». *J. Bone Joint Surg Am*, 56:1368-1374.
5. Agency for Health Care Research and Quality Feb 2008. www.ahcpr.gov/data/hcup
6. URBAN, R. M.; JACOBS, J. J.; TOMLINSON, M. J. y cols. «Dissemination of wear particles to the liver, spleen and abdominal lymph nodes of patients with hip or knee replacement». *J. Bone Join surg Am*, 2000; 82:457-476.
7. GREEN, T. R.; FISCHER, J.; STONE, M. y cols. «Polyethylene particles of a "critical size" are necessary for the introduction of cytokines by macrophages in vitro». *Biomaterials*, 1998; 18:2297-2302.
8. WRIGHT, T. M.; GOODMAN, S. B. «What specific features of wear particles are most important in determining the biological adverse reactions?» *Implant wear in total Joint replacement. AAOS*, 2001, 94-105.
9. RODRIGO, A. M.; MARTÍNEZ, M. E.; ESCUDERO, M. L. «Effects of PE and alpha alumina particles on IL-6 expression and secretion in primary cultures of human osteoblastic cells». *Bone*, 2001; 28:5139-5144.

10. VALLÉS, G.; SALDAÑA, L.; VILABOA, N. y cols. «Cytokine secretion in response to wear particles in thermally oxidized Ti6Al4V alloy». *European Cells and Materials*, 2003; Suppl 2:86.
11. GORDON, A.; SOUTHAM, L.; LOUGHLIN, J. y cols. «Variation in the secreted frizzled related protein-gene and risk of osteolysis and heterotopic ossification after total hip arthroplasty». *J. Orthop Res*, 2007; 25:1665-1670.
12. VIGNÉRY, A. «Osteoclasts and giant cells: macrophage-macrophage fusion mechanism». *Int. J. Exp. Pathol.*, 2000; 81:291-304.
13. VERRIER, S.; HOGAN, A.; MACKIE, N. y cols. «ADAM gene expression and regulation during osteoclast formation». *Bone*, 2004; 35:34-46.
14. TUAN, R. S.; YOUNG-IN LEE, F.; KONTTINEN, Y. T. y cols. «What are the local and systemic reactions and mediators to wear debris and what host factors determine or modulate the biologic response to wear particles?» *JAAOS*, 2008; 16 Suppl 1: S42-S48.
15. HAYNES, D. R.; CROTTI, T. N.; POTTER, A. E. y cols. «The osteoclastogenesis molecules RANKL and RANK are associated with periprosthetic osteolysis». *J. Bone Joint Surg B*, 2001; 83: 902-911.
16. KONTTINEN, Y. T.; TAGAGI, M.; MANDELIN, J. y cols. «Acid attack and cathepsin K in bone resorption around total hip replacement prosthesis». *J. Bone Miner Res*, 2001; 16:1780-1786.
17. MARTÍNEZ, M. E.; MEDINA, S.; DEL CAMPO, M. T. y cols. «Effect of Polyethylene on Osteocalcon, Alkaline Phosphatase and Procollagen secretion by human osteoblastic cell». *Calcif Tissue Int.*, 1998; 62:453-456.
18. RODRIGO, M., MARTÍNEZ, M. E.; ESCUDERO, M. L. y cols. «Effects of MA 956 superalloy and alpha-alumina particles on some markers of human osteoblastic cells in primary culture». *J. Biomed Mater Res.*, 2001; 54:30-36.
19. WANG, M. L.; NESTI, L. J.; TULI, R. y cols. «Titanium particles suppress expression of osteoblastic phenotype in human mesenchymal stem cells». *J. Orthop. Res.*, 2002; 20:1175-1184.
20. OKAFOR, C. C.; HALEEM-SMITH, H.; LAQUERIERE, P. y cols. «Particulate endocytosis mediates biological responses of human mesenchymal stem cells to titanium wear debris». *J. Orthop. Res.*, 2006; 24:461-473.
21. AHU AMER, Y.; DARWECH, I.; CLOHISY, J. C. y cols. «Mechanisms underlying osteolysis and potential therapies». *Arthritis Res. Ther.*, 2007; 9S:1-7.

INTERVENCIONES

Prof. Seoane Prado

Muchas gracias, la estupenda y como siempre clarísima y didáctica exposición del Prof. Munuera me sugiere tres o cuatro preguntas puntuales en relación con los distintos temas que ha planteado. El primero se refiere a la parte cóncava de la prótesis de cuyo anclaje y posibles daños posteriores en cuanto a la relación con el hueso superior no ha hecho ninguna mención, en relación con eso, la emigración que se produce parece que no afecta a esa parte del implante sino a la parte que va al fémur, por decirlo así, ¿tiene algo que ver eso con la migración puramente gravitatoria de las partículas hacia la parte inferior? Porque la mención que hizo de las presiones de mercurio en la parte superior lleva un razonamiento de física sencillo y es que la pieza que se integra en el fémur debido al muy gran ángulo con que se asienta respecto a la vertical da un ángulo muy alto de forma que la presión lateral que ejerce sobre el interior del hueso debe ser más alta que la que se ejerce en la concavidad de la semiesfera superior, luego debería expulsar más que recibir las partículas hacia el interior del fémur, y la tercera pregunta es puramente química, en los materiales empleados, el polifenol tiene una larga historia y de alto peso molecular, ventajas mecánicas evidentes, pero se me ocurre si se ha ensayado o no, un polímero que tiene unas propiedades mecánicas excelentes y muy poco desgaste, que es el poliformaldehído, de muy alto peso molecular, lo que se conoce comercialmente como Delrin, y que tiene unas diferencias mecánicas tales que se emplea en la construcción de engranajes por ejemplo con resistencias iguales o superiores a los engranajes metálicos en ingeniería mecánica, no sé si hay ensayos en cuanto a biocompatibilidad o no y esa es la última pregunta, porque mecánicamente creo que tendría ventajas manifiestas. Muchas gracias.

Prof. Campos Muñoz

Intervengo de nuevo para felicitar al Prof. Munuera por la clarísima exposición que ha realizado, yo la he podido seguir con una facilidad extraordinaria y se lo agradezco mucho porque es un tema de gran interés. Mi pregunta está relacionada por su carácter didác-

tico, ha separado muy bien las poblaciones osteoblástica, osteocítica, sin embargo, en la histología normal conocemos que en el proceso de resorción para que la población osteoclástica actúe, la cooperación de la osteoblástica es fundamental y la cooperación de la población osteoblástica con la participación-relación con la síntesis primero de colagenasa latente, con la activación luego de esa colagenasa para disminuir la sustancia osteoide y que pueda penetrar el osteoclasto, entonces pregunto ¿en este sentido, en este contexto hay también esa interrelación o hay algunos experimentos o trabajos, que yo desconozco, sobre esa interrelación o estudios, porque algunos de los datos que se han dado ahí de porcentajes de poblaciones osteoblásticas, pudieran indicar que esa cooperación parece razonable que pueda existir y debiera quizá estar presente?

Prof. Rodríguez Rodríguez

Perdón también por mi nueva intervención, sólo quisiera decirle una cosa al Prof. Munuera, mucha gracias, porque no es por citarme, sino que me ha hecho entender muchas cosas que son tan difíciles de comprender que con su didáctica exposición me lo ha aclarado de verdad, y en segundo lugar, como clínicamente estamos muy acostumbrados al paciente que nos llega y que teme que le tienen que sustituir la prótesis como ha dicho muy bien, pues nosotros habitualmente hacemos lo que hace todo el mundo creo yo, pedir una gammagrafía para ver más o menos si efectivamente tiene un gran componente de reacción, etc., pero con su experiencia clínica ¿existe de verdad una correlación entre la gammagrafía ósea o hay algún dato más que es más favorable para mandarlo rápidamente a sustituir la prótesis implantada? Enhorabuena, felicidades a nuestro Académico Honorario, por su magnífica disertación que es valiosísima y de alta calidad y actualidad, muchas gracias.

Prof. Guillén García

Quiero felicitar al Prof. D. Luis Munuera por su excelente exposición, pero quizá lo más llamativo sean las últimas diapositivas, en el mundo de hoy se colocan muchas prótesis y alguna vez las autoridades deberán hacer un hospital sólo de recambio, porque con ese

porvenir de sustituciones es enorme. Como todo ha sido muy claro y todos lo hemos entendido muy bien, la cerámica-cerámica, querido Luis, ¿por qué crees que tiene tantos crujidos y ruidos de pacientes que excelentemente operados?, yo sé que es más exigente una cirugía de cerámica-cerámica pero lleva una crujidos que te vuelven loco y tu no sabes que decirle y el paciente está bien, sólo que tiene un gran ruido. Y dos, el aflojamiento, el no séptico porque el séptico no entramos nunca porque creo que no merece la pena ni entrar, el no séptico ¿se tolera mucho tiempo, deberíamos actuar pronto cuando viéramos esa línea que nos va a conducir al recambio?, muchas felicidades Luis por tu excelente conferencia.

Prof. Lucas Tomás

El profesor D. Luis Munuera ha vuelto a hacer una presentación profunda y a la vez inteligible, como nos tiene acostumbrados. Sin embargo quiero comenzar diciendo que me gustó más el título de la anterior, llamada «conquista de la superficie», realmente inigualable.

Entre los materiales que ha citado en las prótesis de cadera: cromo-cobalto-molibdeno, cerámica-cerámica, y metal-metal tenemos nosotros una gran experiencia puesto que, fundamentalmente, el cromo cobalto molidero fue diseñado a petición de los cirujanos máxilofaciales.

A parte de lo dicho, quisiera hacer tres observaciones:

- En primer lugar, que la biología del hueso, es un juego equilibrado o un equilibrio de células osteoclasticas, naturalmente, pero me ha parecido oír menos de las células osteoblásticas. Creo que el equilibrio osteoblasto es el juego que el hueso utiliza para su mantenimiento y reconstrucción, de tal manera, que es ese mecanismo por el que se defiende el hueso, y usted lo ha dicho, el hueso se defiende formando más hueso, estoy totalmente de acuerdo.
- Las lesiones óseas distales en la prótesis en las que se ven zonas radiolúcidas, que parece corresponder a de osteolisis, también podrían estar causadas por las fuerzas oblicuas que está recibiendo el hueso durante la función. Nosotros tenemos larga experiencia en implantes y siempre terminamos por comprobar que las fuerzas que vaya a recibir ese implante, ya totalmente integrado, sean totalmente perpendicular al eje axial,

con el fin de evitar fuerzas oblicuas que son realmente yatrogénicas. ¿ Pasa lo mismo en las prótesis de cadera aunque sea largo el vástago que se introduce en el fémur?

- Junto con los osteoblastos y los osteoclastos, tendremos que ver también la presencia de tejido de granulación, de células gigantes y de reacción a cuerpo extraño. Esto es lo que nosotros intentamos que no exista nunca. En el momento en el que alrededor de un material implantado aparece tejido conjuntivo en forma de tejido de granulación, con macrófagos, células gigantes, etc., aquel implante no está integrado y el interfaz es muy grande. Creo que debemos recordar que toda esta reacción la demostró Bränemark en Goteborg, Suecia, cuando con microscopio electrónico vio que el osteoblasto se abrazaba directamente al titanio sin necesidad de que hubiera cualquier tipo de tejido conectivo entre ambos. Eso es la auténtica integración y lo demás son sucedáneos que nos ponen en condiciones de rechazo del implante.

La presencia de partículas derivadas de anticuerpos a distancia parece ser, en mi opinión, relacionadas con una respuesta a un antígeno como es el material extraño que se intenta implantar. No es de extrañar que halla respuestas en todo el organismo como mecanismo de participación en la aceptación o rechazo de ese cuerpo, y es normal que aparezcan monocitos, macrófagos y ese conjunto de mediadores descrito por Adams, del que no tenía conocimiento.

Le hago dos preguntas específicas, para nosotros es de alto interés. En primer lugar la acción de los bifosfonatos en el episodio de la integración ósea. En los maxilares tenemos grandes problemas con la alteración y respuesta inflamatoria aguda en personas que han tomado bifosfonatos. Pasa lo mismo en el territorio del fémur.

Segunda pregunta: Está diseñada la prótesis en relación con las fuerzas que ha de recibir. A nosotros la acción mecánica y la asociación de las fuerzas es vital. ¿ Es para la zona del fémur y de la cadera tan importante como para la nuestra?

Muchas gracias y mi felicitación.

PALABRAS FINALES DEL SR. PRESIDENTE

Muchas gracias al Prof. González de Posada y al Prof. Munuera por sus magníficas conferencias, por sus magníficas aportaciones, muy diferentes las dos sin duda. Una relativa a la historia de la Real Academia Nacional de Medicina, con algunas aportaciones novedosas e interesantes que ha hecho el Prof. Francisco González de Posada, pero también merecedora de alguna reflexión. Evidentemente quien ha leído el libro del Prof. Sánchez Granjel se encuentra con sorpresas, muchas que al menos yo no conocía, y su detenido análisis y lectura nos pone de manifiesto cómo hay una enorme cantidad de interrogantes que él no sabe tampoco como resolver.

Primero, y en esto coincide González de Posada, se plantea cómo nacen las Academias, que yo creo que ahí está el quid de la cuestión. No quizá lo que pasa luego, con la invasión por parte del poder político. La Academia nace porque el Rey quiere saber directamente de los profesionales más destacados qué está pasando, por encima de lo que le cuente su primer ministro. Se trata de un movimiento ilustrado, similar al que ocurre en toda Europa, no solamente en España.

En los siglos anteriores, es verdad que el poder, por una parte lo tiene el Rey, pero por otra parte lo tiene sus primeros Ministros hasta el nuevo siglo XX donde todo ello cambia. Pero también es verdad que ese poder que en el día a día tienen los políticos, hacen que fomenten la aparición de instituciones que ellos puedan controlar por encima del Rey, incluso dejando a un lado a las Academias. Esto, que sin duda tiene su parte positiva e interesante, es de alguna forma un drama, un drama que ha pasado en toda Europa, pero que Europa resolvió hace un siglo y que nosotros hemos conseguido mantenerlo a pesar de todo, de forma negativa.

En nuestra historia más reciente, nada más que hay que irse a ya década de los años ochenta del siglo pasado, cuando el Gobierno de entonces decide crear una nueva Institución que se llamó la Federación Española de Sociedades Científicas. Ello, al parecer, tenía como objetivo acallar determinadas voces, entonces en conflicto, como eran en ese momento los Colegios Profesionales, dirigidos por grandes profesionales de enorme prestigio. Es decir, el poder político siempre ha tratado de obviar aquello donde estaba la independencia y no podía influir. Por cuanto hoy nos ha expuesto el Prof. González de Posada es un análisis interesante para profundi-

zar y para investigar de una forma muy profunda. Habla también el Prof. González de Posada sobre lo que el Prof. Sánchez Granjel llama los años oscuros, años oscuros que nosotros hemos vivido en primera persona y toda la Junta Directiva por las dificultades que tuvo para poder obtener información esos años. Creo que esos años oscuros no son porque hubieran proliferado otras estructuras, como Colegios, Sociedades Científicas, etc., sino fundamentalmente, y esto hay que decirlo porque esto es muy interesante y digno de estudio, es que durante más de treinta años desaparecieron todas las actas de esta Real Academia.

Sánchez Granjel piensa, que o bien desaparecieron o nunca existieron porque como no había ninguna sede y posiblemente el Secretario de turno responsable de las actas, se las iba llevando a su casa, de una sede a otra. Hemos revuelto toda la Biblioteca, sótanos y otras dependencias buscando alguna caja, que pudiera rellenar eso que él llamó los años oscuros, algo que le faltaba para completar en la historia.

Celebramos también la intervención del Prof. Luis Pablo Rodríguez, llena de buena voluntad, aunque luego ha sido replicado por el conferenciante, en relación con la denominación de Regio o Real. Al margen de lo anterior la conferencia del Prof. González de Posada nos debe llevar a la reflexión y a una profundización en el estudio de las instituciones que surgieron en los siglos XVIII y XIX. Es por ello que hay que seguir investigando, cosa que sabemos sigue haciendo el Prof. Sánchez Granjel.

La segunda conferencia, la de nuestro querido amigo Prof. Luis Munuera, ha estado como siempre llena de esa finura intelectual y científica. Nos ha traído un tema para muchos desconocido pero que es un tema que él lo expone de un modo tan apasionante que irradiaba y nos sumergimos rápidamente en él. No ha hablado de las prótesis, es decir de como son estas prótesis, como esa fricción puede hacer que estas partículas que tienen una actividad inmunogénica e inflamatoria puedan desencadenar ese desgaste tan tremendo. Ha hecho interesantes y también comentarios como el del Prof. Seoane sobre la propia gravedad. Sabemos que la gravedad es uno de los elementos más negativos que tiene el ser humano para todo y seguramente las prótesis también, y cabe preguntarse si las prótesis de otra localización también se degradan de esa misma forma o también se generan esas partículas,. Ha hablado también del osteoblasto, del papel del osteoblasto y sobre todo de algo a mi modo de ver

muy importante, que al final ha aflorado, como ha remarcado el Prof. Guillén, y es el papel del cirujano, el que tiene que poner la prótesis, y si as prótesis están bien o mal puestas. Muy interesantes han sido sus observaciones y respuesta a las preguntas en relación a la degradación o degeneración partículas en relación con el tiempo que llevan puestas.

Solo me queda felicitar a los dos conferenciantes en el día de hoy, el Prof. González de Posada y Prof. Munuera por sus sabias exposiciones. Se levanta la Sesión.

SUMARIO

Páginas

VI SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 23 DE FEBRERO DE 2010

«Agentes químicos causales de la enfermedad de Parkinson», por el Excmo. Sr. D. Manuel Dominguez Carmona	203
«Presencia catalana en la Cirugía del siglo XX», por el Ilmo. Sr. D. Francisco Vázquez de Quevedo	227

VIII SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 9 DE MARZO DE 2010

«La neurotransmisión desde la otra orilla», por el Excmo. Sr. D. Pedro Sánchez García	257
«Terapia celular con condrocitos. Evaluación de la viabilidad celular en cultivos», por el Excmo. Sr. D. Antonio Campos Muñoz	269
Intervenciones:	
Del Prof. Munuera	281
Del Prof. Sanz Esponera	282
Del Prof. Jiménez Collado	283
Del Prof. Pérez Pérez	283
Del Prof. Blázquez Fernández	284
Del Prof. Serrano Ríos	284
Del Dr. Pedro Guillén García	285
Del Prof. Rodríguez Rodríguez	286

X SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 13 DE ABRIL DE 2010

«Secuelas orgánicas en el deportista de élite dopado», por el Excmo. Sr. D. Manuel Vitoria Ortiz	289
Intervenciones:	
Del Dr. Guillén García	303
Del Prof. Rodríguez Rodríguez	303
Del Dr. Valtueña	304

XI SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 20 DE ABRIL DE 2010

«Modulación del sueño REM pro neuronas no-gabaérgicas del hipotálamo y prosencéfalo basal», por el Excmo. Sr. D. Fernando Reinoso Suárez .	309
Intervenciones:	
Del Prof. Segovia de Arana	324
Del Prof. García Sagredo	324
Del Prof. Rodríguez Rodríguez	325
Del Prof. Pedro Sánchez	325

	<u>Páginas</u>
«Bases neuroanatómicas de la acción de las hipocretinas en el sistema reticular ascendente de activación: su aportación a la fisiopatología de la narcolepsia», por el Prof. D. Miguel Garzón García	327
Intervenciones:	
Del Prof. Rubia Vila	342
Del Prof. Pérez Pérez	343
Del Prof. Serrano Ríos	344
XII SESIÓN CIENTÍFICA.—DÍA 27 DE ABRIL DE 2010	
«Historia contextualizada de la <i>Academia Médica Matritense</i> en relación con las academias sanitarias coetáneas durante la <i>Primera Etapa</i> (2.º tercio del siglo XVIII)», por el Excmo. Sr. D. Francisco González de Posada .	391
Intervenciones:	
Del Prof. Rodríguez Rodríguez	368
Del Prof. Campos Muñoz	369
«Artoplastia total: las otras superficies; desgaste y osteolisis», por el Ilmo. Sr. D. Luis Munuera Martínez	371
Intervenciones:	
Del Prof. Seoane Prado	381
Del Prof. Campos Muñoz	381
Del Prof. Rodríguez Rodríguez	382
Del Prof. Guillén García	382
Del Prof. Lucas Tomás	383