

ANALES
DE LA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

AÑO 2003 - TOMO CXX
CUADERNO TERCERO
SESIONES CIENTÍFICAS
SESIÓN NECROLÓGICA



Edita: REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

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

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

X SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 8 DE ABRIL DE 2003

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

**CONTROVERSIAS EN EL TRATAMIENTO
HORMONAL SUSTITUTIVO DE LA MENOPAUSIA**

***CONTROVERSIES IN THE SUBSTITUTE
HORMONAL TREATMENT OF THE MENOPAUSE***

Por el Excmo. Sr. D. JOSÉ ANTONIO CLAVERO NÚÑEZ

Académico de Número

Resumen

Recientes publicaciones en revistas del máximo impacto suscitan grandes y graves dudas entre los ginecólogos. De un lado, la terapia hormonal sustitutiva (THS) no parece tener valor como preventiva del infarto ni de la osteoporosis. De otro, puede acarrear trombosis en los primeros meses de tratamiento, además del ya conocido incremento del riesgo de cáncer de mama a partir del quinto año de THS. En la presente comunicación se expone la sistemática seguida hasta la fecha, y las posibles alternativas que debemos adoptar para evitar presuntas complicaciones, y las subsiguientes reclamaciones que pudieran incoar las pacientes.

Abstract

Recent publications in magazines of the maximum impact raise serious and big doubts among the gynecologists. Of a side, the substitute hormonal therapy (THS) doesn't seem to have value like preventive of the heart attack

neither of the osteoporosis. Of other, it can carry thrombosis in the first months of treatment, besides the already acquaintance increment of the mamma cancer risk starting from the fifth year of THS. In the present communication the systematic one is exposed continued so far, and the possible alternatives that we should adopt to avoid presumed complications, and the subsequent reclamations that the patients could file.

LO QUE SABEMOS Y HACEMOS

Es conocida la acción fisiológica de los estrógenos sobre los vasos sanguíneos y sobre la masa ósea, lo cual queda patente tras la menopausia al aumentar claramente la incidencia de infarto cerebral y el de coronarias, como también la de fracturas de cadera y columna vertebral ocasionadas por la osteoporosis. Pero además se evidencian otras acciones sobre el organismo femenino que deterioran notoriamente la calidad de vida de unas mujeres que, por las características del entorno familiar, están padeciendo el conocido «síndrome del nido vacío». Los síntomas que con más frecuencia motivan la consulta ginecológica son *los sofocos*, relacionados con tasas de estradiol menores de 20 pg/ml, lo cual hace que el hipotálamo responda con fuertes pulsos de LHRH, deca péptido que, además de elevar las tasas de gonadotropinas LH y FSH, dispara el centro de la termoregulación. Esto conlleva el aumento de la temperatura corporal y, como mecanismo compensador, las alteraciones vasomotoras que permiten la pérdida del calor. *La coitalgia* suele ser otra constante molestia, aunque salvo en casos de gran intensidad, sólo es revelada por la mujer cuando es interrogada sobre dicho punto. Se debe a la atrofia vaginal, en especial de la mucosa, por falta de estímulo en los receptores estrogénicos. *Las cistitis* de repetición también se relacionan con atrofia del trígono por el hipoponismo, así como el *envejecimiento de la piel* y del organismo en general. Dado que el estradiol es un neurotransmisor, su descenso motiva, entre otras cosas, *disminución de la libido, insomnio y disminución del tono vital con tendencia depresiva*.

Para evitar estos síntomas se instauró en España, hace más de quince años, un protocolo de terapia hormonal sustitutiva (THS), después de que en USA se dispusiera ya de una amplia experiencia. Es importante señalar que las hormonas utilizadas suelen diferir en ambos países. En USA el estrógeno más recetado es el premarín (estrógenos conjugados de yegua con estrona), así como el gestáge-

no preferente es la medroxiprogesterona. En España también se utilizan ambos, pero lo son más el etinil-estradiol y la progesterona sintética. Existe, sin embargo, un arsenal de fármacos en forma de parches trasdérmicos, píldoras, cremas o inyectables, con esteroides sintéticos propios de cada laboratorio, y esta diversidad de productos dificulta la interpretación de los resultados favorables o no, obtenidos con la THS. En USA pronto se observaron efectos nocivos, concretamente aumento de riesgo de cáncer de endometrio cuando se prescribía sólo estrógenos, y de cáncer de mama cuando, para soslayarlo, se asociaba a un gestágeno. Durante años se ha venido evaluando la relación entre los riesgos y los beneficios de la THS, llegándose a la conclusión de que el único riesgo era el discreto incremento de cáncer de mama, que sólo aparecía cuando la terapia combinada se prolongaba más de cinco años. Por el contrario, eran muchos los beneficios, pues además de eliminarse los síntomas que reducían la calidad de vida, se prevenía la cardiopatía isquémica, el infarto cerebral y la osteoporosis, aunque para lograr esto último, acaso se tuviera que dispensar la THS de por vida.

Para obviar el riesgo de cáncer mamario se propusieron diversos protocolos, pareciéndonos el más eficaz el que selecciona las mujeres por sus riesgos. Por este motivo la THS no está indicada: 1) en mujeres con antecedentes familiares de cáncer de mama o de ovario, por posible mutación en el gen BRCA-1, o en otro gen de los que intervienen en el origen de este cáncer. 2) En casos donde las mamografías muestran o bien imágenes proliferativas (adenosis, ectasia ductal, fibroadenomas y otras) o bien microcalcificaciones sospechosas. En las mujeres que son candidatas a la THS, se prescribirán sólo estrógenos si ha sido histerectomizada, y terapia asociada en el caso contrario. La duración del tratamiento no debe exceder los cinco años, pasando entonces a prescribir otro esteroide sintético, la Tibolona, que conservando la acción beneficiosa de los estrógenos, tiene escasa acción sobre el endometrio, y nula sobre la mama (1). Puede mantenerse otros cinco años, porque si se suspende antes, lo suelen reclamar las mujeres al observar que la Tibolona estimula la libido y el tono vital. Pasado ese lapso de tiempo, y rondando ya los 65 años de edad, no son tan claros sus beneficios, y es entonces cuando puede sustituirse por Raloxifeno de por vida. Esta sustancia bloquea los receptores estrogénicos alfa con más avidez que el estradiol, por lo que actúa como un antiestrógeno. Pero como también estimula los receptores beta, mantiene, entre otras cosas, la masa ósea tan eficaz-

mente como lo hacen los estrógenos, al tiempo que disminuye el riesgo de cáncer de mama (2).

NUEVA INFORMACIÓN SOBRE LA EFICACIA Y EFECTOS NOCIVOS DE LA THS

Después de una experiencia cercana al medio siglo, en 1996 la prestigiosa revista *Lancet* publica en el mismo número dos trabajos, uno procedente de la universidad de Oxford y otro de Seattle (3, 4), donde se observa un incremento de tromboembolismo venoso entre las usuarias que, aunque se triplica, sigue siendo bajo. Puede aparecer en los primeros meses de THS, y no suele revestir gravedad. Este hecho hace dudar de la metodología seguida en las investigaciones anteriores, que pudieron estar sesgadas por emplearse distintos esteroides, o los mismos pero en condiciones diferentes. Por eso se crearon distintos grupos de trabajo donde se aunaban diferentes especialidades, y se iniciaron rigurosos ensayos clínicos. Los grupos más conocidos son la Women's Health Initiative (WHI), The Heart and estrogens/progestin replacement study (HERS), Estrogens replacement and atherosclerosis trial, y la Women's estrogen for stroke trial.

Los primeros resultados de la WHI aparecen en julio de 2002 en la revista *JAMA* (5), y son desalentadores para los ginecólogos que, curiosamente, poco han intervenido en las investigaciones. Sus conclusiones confirman que la tromboembolia venosa es de aparición precoz y tres veces más frecuente entre las usuarias. Pero además, que la THS no sólo no previene la coronariopatía isquémica, sino que puede aumentarla en los dos primeros años de medicación. Y los mismos resultados se observan en el infarto cerebral. Actualmente la Asociación Americana de Cardiología no recomienda prescribir THS para prevenir la cardiopatía isquémica.

En la misma publicación la WHI se ocupa también del cáncer de mama, observando un RR de 1,25, pero solamente tras cinco años de tratamiento de estrógenos con progesterona. Otro grupo, el Fred Hutchinson Cancer Research Center de Seattle (6), obtiene resultados similares, pero el riesgo no aparece antes de los 65 años de edad, o si no se administró progesterona. La edad avanzada actuaría como un factor predisponente, mientras que la participación de los gestágenos, que parece confirmada, cuestiona dudas sobre su

importancia como factor desencadenante, dependiendo de la forma de administración. Ross (7) sólo encuentra riesgo si ésta es secuencial, pero no cuando ambos esteroides se suministran simultáneamente. Magnusson (8) asocia el cáncer de mama a los 19-norderivados, y no a la progesterona pura.

Por último, la WHI observa disminución de fracturas óseas entre las usuarias, lo que no ha sido confirmado por otras investigaciones. Parece ser que tanto la THS como el raloxifeno previenen la pérdida de masa ósea, aunque no hay acuerdo de que ello disminuya las fracturas (2, 9). De hecho la Food and Drug Administration de USA, suprimió en 1999 la THS para el tratamiento de la osteoporosis.

Como conclusión de los resultados obtenidos, la WHI aconseja no prolongar la THS más de cinco años, porque entonces los riesgos exceden a los beneficios.

REPERCUSIÓN DE ESTA INFORMACIÓN EN LOS GINECÓLOGOS

La primera impresión es de escepticismo sobre la información recibida. En esas mismas revistas, del máximo impacto, se han publicado hasta la saciedad investigaciones de las clínicas más prestigiosas, donde los resultados se contradicen.

La segunda es de incertidumbre, porque en caso de ser cierta esta información, podríamos haber ocasionado perjuicios a las pacientes tratadas, y en este supuesto, surge una desagradable sensación de culpabilidad.

A continuación viene el temor de posibles querellas que pudieran incoar las mujeres que, por algún motivo, hayan sufrido un dolo, el cual no tiene por que estar obligatoriamente relacionado con la THS.

Por último, el clínico se pregunta qué hacer desde ahora con las pacientes menopáusicas. Vamos a tratar de responder a esta última cuestión.

TRATAMIENTO PREVENTIVO EN LA PERIMENOPAUSIA

A la vista de la situación planteada, no parece razonable establecer una THS en el climaterio cuando, poco antes o después de la

última regla, la mujer no aqueja síntoma alguno. No hay evidencias de que prevenga la osteoporosis ni la enfermedad tromboembólica, por lo que no se ofertan beneficios y si acaso perjuicios. Para conseguir una prevención de las consecuencias que no siempre conlleva la menopausia, acaso podría ser útil, por su inocuidad, la administración de Fitoestrógenos, aspecto del que nos ocuparemos más adelante.

TRATAMIENTO DE LOS SÍNTOMAS MENOPÁUSICOS

Cuando la mujer acude al ginecólogo porque ha observado un quebranto de su salud, no hay duda de que debe de ser tratada, siempre que los riesgos de la THS no superen a los beneficios esperados. El síntoma por el que más frecuentemente consulta es la sensación de ahogo que conllevan *los sofocos*. Cuando éstos son intensos, hoy por hoy no existe otro remedio eficaz más que la administración de estrógenos, con lo que se realiza un tratamiento etiológico. En este caso creemos que debe prescribirse la THS siguiendo el protocolo que antes expusimos, llevando un riguroso control de la coagulación sanguínea y de las mamas. La detención precoz del cáncer de mama, o de sus precursores, puede efectuarse mediante mamografías y técnicas complementarias, pero la de la coagulopatía resulta más problemática, debiendo siempre asumir la paciente, tras la información pertinente, un presunto riesgo. Cuando los sofocos no adquieren tanta importancia, pueden mitigarse y hacerse soportables con otros medicamentos, entre ellos los fitoestrógenos.

La misma pauta podemos seguir con el resto de los síntomas que señalamos al principio, los cuales eran la causa del deterioro de la calidad de vida de la mujer. Como alternativa a los estrógenos, podemos tratar la *atrofia vaginal* con estriol, que tiene muy poca actividad en el resto del aparato genital, o con Tibolona y con menor éxito con fitoestrógenos. La *osteoporosis* responde a la calcitonina, a los bisfosfonatos y al raloxifeno. Las *alteraciones psíquicas* a los psicotropos y con menor eficacia a los fitoestrógenos.

Podemos resumir diciendo que solamente está indicada la THS cuando aparezcan sofocos intensos, y cuando otros síntomas molestos no responden a la terapia alternativa.

TRATAMIENTO ALTERNATIVO CON FITOESTRÓGENOS

Los fitoestrógenos (10) son moléculas de origen vegetal de acción estrogénica débil. Se discute si es más correcto llamarles Polifenoles, porque su fórmula química difiere de la de los estrógenos ováricos. Esto es un error porque es estrógeno toda aquella sustancia capaz de provocar el estro en la rata, independientemente de su estructura química. Los fitoestrógenos más activos son las Isoflavonas, concretamente la Genisteina y la Daidzeina. Las Isoflavonas pertenecen a los Flavonoides, llamados vitamina P por su descubridor, Szent-Gyorgy.

Los fitoestrógenos en general están presentes en todos los cereales, y en menor proporción en las legumbres, hortalizas y casi todos los vegetales, por lo que se ingieren en una dieta normal. Pero donde más abundan las isoflavonas antedichas es en la soja, concretamente en la semilla y derivados como son la harina, la leche de soja y el tofu. Aproximadamente 100 gr de semilla de soja contienen 300 mg de isoflavonas. Son, por el contrario, escasas en los brotes de soja, su aceite y en la salsa.

Su mecanismo de acción es similar al de los estrógenos, pero solamente estimulan los receptores beta, que se encuentran por casi todo nuestro organismo, especialmente en SNC, hueso y aparato cardiovascular. No existen en el útero ni en las mamas, y son escasos en vagina.

Además de su acción beta-esteroide, tiene otras que son altamente beneficiosas: son antioxidantes, por lo que, entre otras cosas, retardan el envejecimiento celular. Inhiben las enzimas que intervienen en la replicación celular, por lo que actúan como antitumorales. Inhiben la angiogénesis, mecanismo que refuerza al anterior. Por último, aumenta los receptores hepáticos para el LDL, por lo que mejora el equilibrio lipídico. A ello contribuye el que la semilla de soja carece de colesterol y de grasas saturadas. La grasa presente, sólo el 5 %, lo es mayoritariamente en forma de lecitina, fosfolípido esencial para el buen funcionamiento del SNC. La semilla tiene un alto contenido de fibra (4,5 %), bajo índice energético (130 cal/100 gr) y abundante vitamina B (sobre todo riboflavina), además de las E y K.

La dieta occidental normal contiene 5 mg/día de isoflavonas, mientras que la oriental de 40-50 mg/día, llegando la japonesa a los 200. Acaso esto explique que sólo tengan sofocos el 10-15 % de las

menopáusicas que consumen dicha dieta, mientras que el 75-80 % de las occidentales los padecen. Entre aquéllas también son más bajas las tasas de LDL, las placas de ateroma, las pérdidas de masa ósea, y lo que es más importante, el cáncer de mama. Y no olvidemos que en los varones, que también siguen la misma alimentación desde niños, es menos frecuente el cáncer de próstata.

Para terminar, los beneficios con los que se nos presenta esta alternativa a la THS, resulta no ser tóxica, carecer de efectos colaterales y ser compatible con cualquier otra medicación. Su principal inconveniente es que tarda unas doce semanas en hacerse patentes sus efectos, no siendo eficaz para las pacientes con fuerte sintomatología. Acaso, y mientras se dilucida la realidad sobre la THS, lo más prudente sea suministrar fistoestrógenos años antes de la menopausia, para tratar de evitar los sofocos agobiantes, y asimismo recomendarlos en mujeres menopáusicas con escasa sintomatología.

BIBLIOGRAFÍA

1. VAN DE VEN, J.; DONKER, G. H.; SPROG, M.; BLANKENSTEIN, M. A.; THIJSEN, J. H.: «Effect of tibolone (Org OD14) and its metabolites on aromatase and estrone sulfatase activity in human breast adipose stromal cells and in MCF-7 and R47D breast cancer cells». *J Steroid Biochem Mol Biol* 2002 Jul.; 81 (3): 237-47.
2. ASOCIACIÓN ESPAÑOLA PARA EL ESTUDIO DE LA MENOPAUSIA: «Osteoporosis postmenopáusica». III Conferencia de consenso. Madrid 19-21 abril (2002).
3. DALE, E.; VESSEY, M. P.; HAWKINS, M. M.; CARSON, J. L.; GOUGH, P.; MARSH, S.: «Risk of venous Thromboembolism in users of hormone replacement therapy». *Lancet* 1996; 348: 977-80.
4. JICK, H.; DERBY, L. E.; MYERS, M. W.; VASILAKIS, C.; NEWTON, N.: «Risk of hospital admission for idiopathic thromboembolism among users of postmenopausal oestrogens». *Lancet* 1996; 348: 981-83.
5. ROSSOUW, J. E.; ANDERSON, G. L.; PRENTICE, R. L.; LACROIX, A. Z.; KOOPERBEG, C.; SETAFNIK, M. L.; JACKSON, R. D.; BERESFORD, S. A.; HOWARD, B. V.; JOHNSON, K. C.; KOTCHEN, J. M.; OCKENE, J.: *JAMA* 2002, Jul. 17; 288 (3): 321-33.
6. DARLING, J. R.; MALONE, K. E.; DOODY, D. R.; VOIGT, L. F.; BERNSTEIN, L.; COATES, R. J.; MARCHBANKS, P. A.; NORMAN, S. A.; WEIS, L. K.; URSIN, G.; BERLIN, J. A.; BURKMAN, R. T.; DEAPEN, D.; FOLGER, S. G.; McDONALD, J. A.; SIMON, M. S.; STROM, B. L.; WINGO, P. A.; SPIRITAS, R.: «Relation of regimens of combined hormone replacement therapy to lobular, ductal, and other histologic types of breast carcinoma». *Cancer* 2002, Dec. 15; 95 (12): 2455-64.

7. ROSS, P. K.; PAGANINI-HILL, A.; PIKE, W. P. C.: «Effect of hormone replacement therapy on breast cancer risk: estrogen versus estrogen plus progestin». *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 328-32.
8. MAGNUSSON, C.; HOLMBERG, L.; NORDEM, T.; LINDGREN, A.; PERSSON, L.: «Prognostic characteristics in breast cancer after hormone replacement therapy». *Breast cancer Res Treat* 1996; 3: 325-34.
9. GRADY, D.; CUMMINGS, S. R.: «Postmenopausal hormone therapy for prevention of fractures: How good is the evidence?». *JAMA* 2001; 285: 1909-10.
10. HAYA, J.; CAMIL CASTELO-BRANCO, C.; PÉREZ-MEDINA, T.: «Fitoestrógenos: conocimientos básicos y utilidad clínica». *Toko-Gin Pract.* 2002; 61 (6): 337-63.

INTERVENCIONES

Prof. Escudero Fernández

Me levanto para felicitar al Prof. Clavero por la oportunidad que nos ha brindado de traer a la Academia un tema de candente actualidad.

Quiero hacerle unas preguntas. Una, pedir su opinión de quién debe indicar y controlar la terapéutica hormonal sustitutiva, ya que hay una tendencia que no comparto a que lo hagan los médicos de familia, con todos mis respetos hacia ellos, o incluso las enfermeras especializadas o matronas. En mi opinión, deben hacerlo los Especialistas en Ginecología, dadas las complicaciones que muy bien ha dicho el Prof. Clavero pueden derivarse de dicha terapéutica.

Por otro lado, ¿qué importancia puede tener en el «cumplimiento» de esta terapéutica el que sea indicada y controlada por estos profesionales? Es sabido que en España sólo el 5 ó 10 % de las posibles usuarias de este tratamiento, lo hacen, y que el cumplimiento de la terapéutica es bajo.

Otra pregunta es la relación que puede tener en la quimioprevención del cáncer de mama el tratamiento con Raloxifeno. Se sabe por estudios, entre ellos el estudio Fisher, que el uso del Tamoxifeno puede reducir el riesgo de padecer cáncer de mama.

¿Qué opina de los moduladores de los receptores estrogénicos, el Raloxifeno, del que ha puesto un interrogante en su exposición al tiempo en que se puede utilizar como terapéutica hormonal sustitutiva?

Nada más que felicitarle nuevamente por su intervención, tan clara y bien expuesta como nos tiene acostumbrados.

Prof. Zarco Gutiérrez

Quiero confirmar uno de los puntos de la excelente conferencia del Prof. José Antonio Clavero. El género femenino en la edad fértil no tiene cardiopatía isquémica y empieza a tenerla en la menopausia 10 años después que el varón. Por ello, parecía razonable administrar estrógenos al género femenino en la menopausia. Y por ello, para los cardiólogos, fue un hecho sorprendente los trabajos que aparecieron en el *JAMA* y en el *New Engl J Med* de que los estrógenos no sólo no protegían de enfermedad coronaria a la mujer, sino que aumentaba la incidencia de cardiopatía isquémica y de ictus. Es un hecho paradójico que nos ha dejado perplejos a los cardiólogos y cuya explicación ignoramos. También le quiero decir que mi mujer pertenece al grupo femenino español del que hablaba el Prof. Clavero, porque se negó a tomar los estrógenos que yo le recomendaba antes de conocer estos últimos estudios.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

El Prof. Clavero ha traído a la Academia, ha planteado la gran controversia de la Ginecología de los últimos decenios, el tratamiento hormonal sustitutivo de la menopausia. Controversia que afecta, como es natural, al ginecólogo, pero que interesa muchísimo a médicos de otras especialidades. El asunto incluso ha rebasado el límite de las academias médicas; ha habido discusiones y polémicas en medios de comunicación, etc., como sabe muy bien el Prof. Clavero. Hay que agradecerle, pues, que haya traído este asunto de interés a nuestra Academia.

La valoración, la estimación y la crítica del problema es muy difícil. Es criticar una actuación terapéutica que afecta especialmente a la mujer en una fase de su ciclo vital, que tiene trascendencia lógica directa en la mujer en fase menopáusica, como hemos visto ya desde la fase pre-menopáusica, que afecta notoriamente no sólo al sistema nervioso, al comportamiento de la mujer, a la conducta de la mujer, al modo de sentir de la mujer, sino, como es natural, dado el lugar que la mujer ocupa en la sociedad, en la familia, en las personas que conviven, marido e hijos, es de gran trascendencia.

Es difícil opinar al respecto, sobre todo para los que vemos el problema patológico de la menopausia desde esferas médicas diver-

sas, distintas. Hay que agradecer a los ginecólogos, como hemos visto en el Prof. Clavero, que se plantean, de hecho, este importante problema. Afecta a la farmacología, a la terapéutica, al control, a muy diversos especialistas. Da la impresión de que el asunto no está definitivamente aclarado, la prueba de que hay dos grupos de ginecólogos, y es posible que éste sea un punto de investigación de los más fundamentales en el devenir de la ginecología.

Felicito al Prof. Clavero por la claridad con que nos ha expuesto un problema controvertido, y por lo tanto difícil, y con diversas opiniones. Muchas gracias, porque nos ha aclarado muchas cosas. Se levanta la sesión.

XI SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 29 DE ABRIL DE 2003

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

**LA ADHERENCIA BACTERIANA
EN LA PATOGENIA DE LAS ITU**

***BACTERIAL ADHERENCE IN PATHOGENESIS
OF URINARY TRACT INFECTIONS***

Por el Excmo. Sr. D. GONZALO PIÉDROLA ANGULO

Académico de Número

**VARIABILIDAD GENÉTICA DEL VIRUS
DE LA HEPATITIS C Y SU RELACIÓN CON
LA CLÍNICA Y EL TRATAMIENTO**

***GENETIC VARIABILITY OF THE VIRUS
OF THE HEPATITIS C AND THEIR RELATIONSHIP
WITH THE CLINIC AND THE TREATMENT***

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

Académico de Número

LA ADHERENCIA BACTERIANA EN LA PATOGENIA DE LAS ITU

BACTERIAL ADHERENCE IN PATHOGENESIS OF URINARY TRACT INFECTIONS

Por el Excmo. Sr. D. GONZALO PIÉDROLA ANGULO

Académico de Número

Resumen

La posibilidad de una colonización y posterior infección urinaria se debe a un primer contacto entre una serie de estructuras de las bacterias, denominadas adhesinas (fímbricas o no-fímbricas) y unos receptores o ligandos de la superficie del epitelio urinario. Las fimbrias bacterianas de *Escherichia coli*, de las que se han estudiado hasta siete tipos diferentes, son estructuras proteicas codificadas por el ADN cromosómico, siendo las más importantes las del tipo 1, en relación con la colonización de las vías bajas, y las tipo P, con las cistitis y pielonefritis. Se estudian con detalle sus distintos componentes proteicos y la muy compleja regulación genética de su producción, hecho de gran interés en la patogenia de estas infecciones y en la posibilidad de su prevención. Los receptores de cada tipo de fimbria son también químicamente diferentes, y su conocimiento explicaría datos clínicos importantes.

Abstract

The possibility of a colonization and later urinary infection is due to a first contact among a series of structures of the bacterium, denominated adhesins (fimbria or no-fimbria) and some receivers or ligands of the surface of the urinary epithelium. The bacterial fimbriae of *Escherichia coli*, of those that have been studied up to seven different types, are protean structures coded by the chromosomal DNA, being the most important those of type 1, in connection with the colonization of the low roads, and the type P, with the cystitis and pyelonephritis. They are studied with detail their different protean components and the very complex genetic regulation of

their production, made of great interest in the pathogeny of these infections and in the possibility of their prevention. The receivers of each fimbriae type are also chemically different, and their knowledge would explain important clinical data.

Las infecciones urinarias son el resultado de la interacción de la virulencia de las bacterias y una serie de factores específicos e inespecíficos de las defensas del hospedador. Son bien conocidas las rutas de la infección ascendente, linfática y hematógena, y como la vía ascendente predomina en las infecciones de la comunidad y la hematógena es casi exclusiva de las intrahospitalarias, con la excepción de las infecciones concurrentes con obstáculos en el arrastre de la orina, como son la litiasis urinaria, el embarazo, los tumores y las anomalías congénitas. La más importante es la vía ascendente, lo que explicaría la mayor frecuencia de cuadros por razones anatómicas en las mujeres (la uretra es más corta y se encuentra más cercana al área perineal), tras el coito, y sobre todo, después del uso de sondas permanentes vesicales. Pero todos estos factores, ascendentes o descendentes, lo único que favorecen es el contacto continuado de las bacterias con el urotelio (según los estudios experimentales de Gordon y Riley en 1992 sería necesaria la permanencia de 50 minutos en la vejiga urinaria para producirse la adherencia), y por ello desde hace unos años el estudio de la patogenia de las ITU está orientado a ese contacto bacteria-célula epitelial, que indicaría el comienzo de todo el proceso infeccioso, previo a la colonización y posterior invasión en profundidad del epitelio.

Las infecciones urinarias comienzan generalmente por la colonización de la uretra por cepas de *Escherichia coli* procedentes del colon, previa o no a la también colonización, en las mujeres, de la vagina por dichas cepas (producida por alteraciones de la microbiota de los *Lactobacillus* o por acción de diversos espermicidas). En ambos casos son las fimbrias tipo 1 las responsables de la colonización. Las bacterias con mayor adherencia a células vaginales y periuretrales se seleccionarían para colonizar las regiones adyacentes al orificio uretral.

Aunque la ITU puede ser causada por muchos microorganismos, *Escherichia coli* sigue siendo el agente más importante. De todos los serotipos de esta bacteria, sólo unos pocos tienen la capacidad de colonizar e invadir el tracto urinario (01, 02, 04, 06, 07, 075, 0150), serotipos distintos a los causantes de los cuadros diarreicos de los

seis grupos diferentes, aunque todos ellos provienen de la microbiota fecal. De ahí que se hable de serotipos uropatógenos, para diferenciarlos de otros comensales; algunos de ellos están relacionados expresamente con casos de pielonefritis.

Hoy conocemos algunos de los factores de virulencia de dichos serotipos uropatógenos de *E. coli*, llamados **adhesinas**, que se unen a receptores de las células humanas. La adherencia es la interacción inicial de un microorganismo patógeno con su hospedador, paso previo para la invasión celular y la difusión de toxinas. Las adhesinas son moléculas microbianas que median la fijación del microorganismo a un receptor de la célula del hospedador. Una determinada adhesina puede unirse a más de un receptor, y un solo receptor puede ser reconocido por diferentes adhesinas. Las adhesinas son de dos tipos principales: las fimbrias y las adhesinas no-fimbrias.

FIMBRIAS

Las fimbrias son unas organelas filamentosas que surgen de la membrana externa de las bacterias y que poseen 2 a 8 nm de diámetro y hasta 15 nm de longitud, encontrándose colocadas alrededor de toda la bacteria, en un número de 100 a 1.000 por célula. Se diferencian de los flagelos por su menor longitud y grosor (15-20 nm) y por ser rectas (y no sinuosas), y de los pili sexuales de gran importancia en los fenómenos de transferencia genética, por su menor longitud. Están constituidas por unidades proteicas colocadas helicoidalmente a lo largo de una estructura cilíndrica; a dicha proteína de 20 kilodaltons se le conoce como pilina. Están codificadas por el cromosoma o núcleo bacteriano, a diferencia de las codificadas por plásmidos de *E. coli* enterotoxigénico. Las cepas de *E. coli* uropatógeno producen múltiples tipos de fimbrias de distintos serotipos, que ayudan a la bacteria a impedir la acción de las IgA de la mucosa epitelial. Por su morfología y estructura al microscopio electrónico, sus funciones y aglutinación de hematíes se han identificado varios tipos de fimbrias, agrupadas en dos grandes apartados, según que la adherencia a los receptores del urotelio sea inhibida o no por la manosa: MS (manosa sensibles) y MR (manosa resistentes).

La mayoría de las cepas uropatógenas de *E. coli* se unen de for-

ma muy específica a receptores, que son carbohidratos residuales de la estructura de glicoproteínas o glucolípidos. Si el residuo es la manosa, la unión es mucho más patente en las cepas que provienen de cuadros de cistitis, que en los de pielonefritis. Las fimbrias que se unen a estos receptores de manosa son del tipo 1 y la adherencia es inhibida en presencia de manosa (MS). Los epítomos de manosa son glicoproteínas provenientes, de las células del urotelio, así como de la IgA secretoria y la proteína de Tamm-Horsfall del moco urinario (PTH, segregada por las células del tramo ascendente del asa de Henle, muy rica en residuos de manosa), que actúa como un slime o biofilm, al que se unen con gran avidez las fimbrias tipo 1 de *E. coli*. La PTH se une fuertemente a las fimbrias 1 y S, lo que puede impedir la adhesión a los receptores celulares del urotelio.

Las fimbrias tipo 1 (tabla 1) están codificadas por un conjunto o clouster de **nueve** genes, denominados *pil* o *fim*. El gen *fim A* codifica la subunidad proteica base de la fimbria, que puede expresarse independientemente del *fim H* que codifica la proteína H, que es la que se adhiere a la célula hospedadora. Las fimbrias tipo 1 se obtienen de la mayoría de los cuadros clínicos de UTI, pero no especialmente de los cuadros de pielonefritis. La proteína H de la fimbria también se une a receptores manosa de los PMN, lo que hace que las bacterias fagocitadas sean rápidamente destruidas en el interior de aquéllos. Incluso se ha comprobado que *E. coli* desprovistos de fimbrias tipo 1 que alcanzan la pelvis renal sobreviven en el interior de los PMN, además al abrigo de los antibióticos, y serían responsables de las recaídas de la bacteriuria.

Las fimbrias tipo 1 serían, además, responsables de la adherencia bacteriana a las sondas urinarias, de tanta importancia en las infecciones de sujetos hospitalizados. También se ha comprobado que el uso de clotrimoxazol (trimetropim-sulfa) en la prevención de las ITU reduce la síntesis, expresión y función adhesiva de las fimbrias tipo 1, a dosis por debajo de las C.M.I.

Las fimbrias P de *Escherichia coli* (tabla 1) son las mejores estudiadas y se encuentran frecuentemente en los aislados clínicos. Alrededor del 95% de las cepas aisladas en niños y del 50 al 90% de los adultos con pielonefritis, expresan fimbrias P. Estas se unen tanto al urotelio, como a los hematíes humanos del grupo sanguíneo P; de ahí su nombre. Las fimbrias P poseen una subunidad proteica polimerizada llamada Pap A, la **fibrilina**, proteína estruc-

TABLA 1

Principales fimbrias de las cepas uropatógenas de *Escherichia coli*.

<i>Adhesina</i>	<i>Gen</i>	<i>Receptor</i>
Fimbrias tipo 1 (MS)	<i>pil, fim</i>	D-manosa de células. epiteliales y glicoproteínas PHT, IgAs, y de PMN
Fimbrias P (MR)	*clase I: <i>pap G</i> ₁₉₆ *clase II: <i>pap GAP</i> **clase III: <i>prs</i>	Gal (a1- 4) Gal (grupo sanguíneo P)
Fimbrias S (MR)*	<i>sfa</i>	Siálico (a2—3)-galactósido
Fimbrias tipo F _{1c} (MR)*	<i>fac</i>	Galactosil-ceramida
Fimbrias G (MR)		Terminal N-acetil-glucosamina
Fimbrias M (MR)		Galactosa-N-acetil-glucosamina
Familia DR* (fimbrias o no)	<i>dra</i> (gen E) <i>afa</i> E1-5 <i>afa</i> F	Antígeno del grupo sanguíneo Dr

* Fimbrias asociadas con pielonefritis

** Fimbrias asociadas con cistitis

tural de las fimbrias, y una proteína Pap G que es la adhesina, que se encuentra en el extremo terminal de la fimbria y es esencial en la patogenia de la pielonefritis. (Pap viene de **Pili** asociados con **pielonefritis**). Las mujeres con infecciones recurrentes tienen una probabilidad dos a tres veces mayor de ser no productoras de la sustancia del grupo sanguíneo P.

Las fimbrias P están constituidas por nueve proteínas distintas, que de la membrana externa del *E. coli* al exterior son: la H de anclaje a dicha membrana, la proteína polimerizada principal A, la K, la E, la F y la G final. *K, E, F* y *G* codifican las proteínas fibrilares, siendo K la que une la proteína E del asta de la varilla a la principal A. F adapta la unión de la E a la G, que es la verdadera adhesina. Además existen las proteínas D y J que son chaperoninas, y la proteína C, acomodador o conserje, que luego citaremos.

Los receptores de las fimbrias P son glicolípidos (ceramida) ricos en **globobiosa**, un disacárido a-D-galactopiranosil-(1,4)-b-D-galactopiranosil (Gal-Gal). Estos glicolípidos y glicoproteínas recepto-

res están ampliamente distribuidos en todo el aparato urinario del 99% de la población, y en particular en el riñón. Parece ser que estas estructuras están cargadas negativamente (igual que la superficie de la bacteria), mientras que la proteína G terminal de la fimbria lo está positivamente, lo que llevaría a la unión electrostática. Pero este mecanismo no explicaría por sí solo la unión, pues existen adhesinas no fimbricas que unen estructuras superficiales de la bacteria y la célula epitelial.

La biosíntesis, ensamblaje y regulación de las fimbrias P, que ocurren principalmente a 37°C, están codificadas por el operón *pap*, un cluster de genes que se encuentra en el cromosoma bacteriano. Es un proceso complejo, donde intervienen junto a las proteínas estructurales de la fimbria, numerosas proteínas auxiliares. Este operón *pap* se encuentra en el 5-10% de las cepas de *Escherichia coli* de origen fecal y en el 90% de las aisladas de pielonefritis de los niños. En una primera etapa de la síntesis, se forman por una parte la proteína principal A, con la intervención de **chaperoninas** configuradoras de la estructura tridimensional (J-O), y por otra los componentes más distales (G, F y E), transportados y ensamblados por chaperoninas D y O-J. Todas estas proteínas son llevadas a la membrana externa, donde una proteína C, usher, «andamio» o acomodador molecular ayuda a traslocar las subunidades de las fimbrias a través de la membrana; la proteína C también actúa como de ensamblaje de toda la estructura fibrilar, primero de las proteínas más lejanas y responsables de la adherencia, y después de la proteína principal A. La proteína periplásmica H señala la terminación o final del proceso de polimerización y extrusión de la fimbria y ancla la misma a la pared celular.

La regulación genética de este proceso es muy compleja. En el cromosoma de *E. coli* los **once** genes del operón *pap* se encuentran dispuestos de la siguiente manera:



papI y *papB* son genes reguladores; **A** codifica la proteína principal que se polimeriza para formar el bastón de la fimbria, H la de anclaje y terminación, C el «andamio», D y J son chaperoninas. *K, E, F* y *G* codifican las proteínas fibrilares, siendo K la que une la proteína E del asta de la varilla a la principal A. F adapta la unión de la E a la G, que es la verdadera adhesina.

Como en todos los procesos de este tipo, en el operón existen genes reguladores, promotores, operadores y estructurales, que transcriben a un ARNm monocatenario policistrónico la información de la producción de las proteínas. *PapI* y *papB* codifican positivamente proteínas reguladoras necesarias para la expresión de los genes estructurales. Los genes estructurales son transcritos por un solo promotor, P_{BA} , que pone en marcha los genes *papA* y *papB*. El gen P_1 es el promotor del gen *papI*, y actúa en sentido inverso.

La regulación de los genes *pap* es muy compleja, y utiliza un mecanismo de variación de fase, tipo «off/on». La expresión de los genes es variable según la temperatura, la concentración de glucosa y ciertos aminoácidos en el medio. El modelo de actuación sería el siguiente:

El gen promotor contiene dos sitios para la metilación del DNA (**Dam**) en los residuos de la secuencia GATC, que existe en los sitios 1028 y 1130. Esa metilación es la que configura el on o el off, Pero la actuación de la metilasa Dam necesita de un regulador muy común en los genes de *E. coli*, que es la proteína de respuesta a la leucina o **LRP**. La metilación en el sitio P_{BA} es necesaria para que se una a la forma activa de LRP. El complejo **LRP-PapI** debe estar no metilado para configurar la forma «on». Si LRP y LRP-PapI están unidos en los sitios apropiados y **CBP** (cAMP-binding protein) se une a ellos junto a PapB, se forma el complejo activo («on») y los genes de los pili pueden ser transcritos desde P_{BA} . La transcripción del otro promotor P_1 controla los niveles de PapI. LRP y CRP explicarían como el operón se regula por los niveles de aminoácidos y glucosa, respectivamente. La regulación por la temperatura se hace por una proteína tipo histona (H-NS)

Las fimbrias P poseen unas considerables variaciones antigénicas, que las pueden dividir en múltiples subgrupos. Así la adhesina terminal Pap G posee tres variantes moleculares, codificadas por alelos del *pap G* de importancia clínica, ya que Johnson demostró en 1998 que el alelo II predomina en los casos de pielonefritis y bacteriemia, mientras que el III aparece en niños y mujeres con cistitis.

Los genes de la síntesis y ensamblaje de las fimbrias P manosa-resistentes se encuentran en un cluster muy cercano a los de la síntesis y excreción de la hemolisina HlyA, el factor 1-necrotizante y la aerobactina (un sideróforo), importantes factores de virulencia de las cepas de *E. coli* pielonefritógenas. A las regiones que contienen estos clusters de genes, se les ha denominado bloques de genes de

virulencia, y son prototipo de los actualmente llamados **islotes de patogenicidad asociada (PAI)**, que están ausentes en *Escherichia coli* fecales no uropatógenos. Están flaqueados por segmentos repetitivos de DNA y pueden ser transferidos en bloque a otras bacterias, mediante elementos genéticos móviles, como los transposones. Se está desarrollando una sonda genética conjunta que reconozca estas cepas, lo que para el clínico constituiría una herramienta muy útil en la adopción de una actitud terapéutica y en el establecimiento de pautas preventivas. Así, el aislamiento de cepas de *Escherichia coli* portadoras de PAI en mujeres adultas o ancianos con bacteriuria asintomática podría sentar una base razonable para que estos casos fuesen tratados con antibióticos.

Como las fimbrias se rompen y se pierden fácilmente, hay un continuo proceso de producción de nuevas fimbrias. Las fimbrias proteicas producen en el hospedador anticuerpos específicos, que se unen a ellas y las neutralizan. Pero se ha demostrado en *Neisseria gonorrhoeae* y en *E. coli* uropatógenos, que los genes de las proteínas estructurales de las fimbrias se encuentran en continua mutación, lo que produce variaciones antigénicas, por lo que es casi imposible hallar una respuesta humoral que prevenga la colonización a nivel de los respectivos epitelios, uretral y urinario.

En diferentes estudios experimentales con distintos modelos animales, se ha comprobado que el uso de vacunas con antígenos P, producen anticuerpos que previenen la inoculación posterior con cepas de *E. coli* poseedoras de fimbrias. Estos estudios comenzaron con el uso de vacunas de fimbrias de *E. coli* productoras de diarreas en los cerdos. Posteriormente se han realizado múltiples experimentos con fimbrias P purificadas de uropatógenos, clase II de PapG, tanto en ratones como en primates, con buenos resultados en las pruebas posteriores de inoculación con distintas cepas, consiguiéndose la protección contra la pielonefritis: protección que es más eficaz mientras más alto es el título de anticuerpos antifimbrias P. La aplicación de la tecnología del ADN recombinante para expresar epítomos protectores específicos, puede aumentar la eficacia de estas vacunas de fimbrias. El uso en humanos de estas vacunas y su efectividad está en desarrollo y por dilucidar.

Además de las fimbrias tipo 1 y tipo P, existen otras (tabla 1), como la S (7% de las cepas uropatógenas), F_{1c}, G y M (todas ellas manosa resistentes) y que han sido identificadas en cepas uropatógenas de *Escherichia coli*.

Las fimbrias S son manosa resistentes y se denominan así porque se unen a un receptor sialogalactósido de los hematíes humanos. Es el ácido neuraminil-a-(2-3)-galactosa-b-(1-3)-N-acetilglucosamina. Este receptor también se une a las cepas productoras de meningitis y septicemias. La familia de hemaglutinina Dr incluye adhesinas fimbricas y no-fimbricas. Cuatro genes han sido descritos como productores de las proteínas, que se adhieren al antígeno del grupo sanguíneo Dr, ampliamente distribuido a lo largo del epitelio del tracto urinario. Las cepas con estas fimbrias, a pesar de que tienen un bajo potencial invasivo, se han aislado de infecciones renales persistentes y podrían jugar un papel importante en pielonefritis crónica y nefritis intersticial.

Además de en *Escherichia coli*, en otros uropatógenos gramnegativos se han descrito fimbrias responsables de la adherencia al epitelio urinario. Por ejemplo, en *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* spp. y otras enterobacterias.

ADHESINAS NO-FÍMBRICAS

Se trata de **proteínas bacterianas superficiales no fibrilares** que se unen fuertemente a estructuras proteicas o hidrocarbonadas de la superficie de la célula del hospedador. Su conocimiento es escaso y un ejemplo de ellas son las adhesinas proteicas no fimbricas AFA-I, AFA-III y Dr de *E. coli* que reconocen un receptor común (el antígeno del grupo sanguíneo Dr), las adhesinas proteicas de *Pseudomonas aeruginosa* o la proteína Ipa (antígeno del plásmido de invasión) de *E. coli*. Así pues, hay una marcada diferencia entre los receptores de las adhesinas tipo fimbria que son glicolípidos o glicoproteínas, y los de las adhesinas no-fimbricas, que son proteicos o hidrocarbonados.

Los estudios de fimbrias y adherencia se han realizado siempre en bacterias gramnegativas. En las grampositivas aparecen adhesinas fimbricas (como la proteína M del *Streptococcus pyogenes*) y adhesinas no fibrilares, como la proteína F de la misma bacteria, que se une a la fibronectina de las superficies epiteliales. Así, se explicaría el papel de *Staphylococcus aureus* (que predomina en cistitis y pielonefritis ascendente) y *Staphylococcus saprophyticus* (que predomina en cistitis). Además, las fimbrias y los factores SSP-1 y SSP-2 de *Staphylococcus epidermidis* y la proteína AltE de *S. aureus*,

jugarían un papel muy importante en la adherencia de esta bacteria a las sondas urinarias y otros materiales plásticos.

* * *

La importancia de la adherencia bacteriana de las infecciones urinarias, como factor de virulencia, estaría incompleta si no se considera el papel importante de otros factores:

— Del **microorganismo**, como los flagelos (movilidad ascendente de *Proteus* spp.), la ureasa (también en el grupo *Proteus* o en *Klebsiella*), el antígeno polisacárido capsular K que inhibe la fagocitosis (*E. coli*, *Klebsiella*), las hemolisinas (HlyA de *Escherichia coli* y *P. aeruginosa*, que facilitan la invasión tisular, lesionan el epitelio tubular renal), los sideróforos o sustractores de hierro, como la aerobactina, ya que las bacterias necesitan hierro para su crecimiento (*Escherichia coli*, *P. aeruginosa*), la resistencia a la actividad bactericida del suero, el factor citotóxico necrosante tipo 1, y las endotoxinas o LPS de la pared de las bacterias gramnegativas, tan importantes en la respuesta inflamatoria y en la disminución de la movilidad ureteral.

— Del **hospedador**, como el pH y la osmolaridad de la orina, la importantísima acción de arrastre, los inhibidores de la adherencia (PTH, mucopolisacárido de la vejiga, oligosacáridos de bajo peso molecular, IgAs, lactoferrina), la fagocitosis y ciertas linfocinas, elaboradas precisamente por los fenómenos de la adherencia bacteriana, y los LPS de la pared microbiana.

BIBLIOGRAFÍA

- BACKHED, F.; ALSÉN, B.; ROCHE, N.; ANGSTRÖM, J.; VON EULER, A.; BREIMER, M. E.; WESTERLUND-WIKSTROM, B.; TENEBERG, S.; RICHTER-DAHLFORS, A.: «Identification of target tissue glycosphingolipid receptors for uropathogenic F1C-fimbriated *Escherichia coli* and its roles in mucosal inflammation». *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 18198-18205.
- FALAGAN, M.; GORBACH, S.: «Practice guidelines: urinary tract infections». *Infect. Dis. Clin. Pract.* 1995; 4: 241-257.
- GOLUSZKA, P.; POPOV, V.; SELVARANGAN, R.: «Dr fimbriae operon of uropathogenic *Escherichia coli* mediate microtubule dependent invasion to the HeLa epithelial cell line». *J. Infect. Dis.* 1997; 176: 158-167.
- GROISMAN, E. A.; OCHMAN, H.: «Pathogenicity islands: Bacterial evolution in quantum leaps». *Cell.* 1996; 87: 791-794.

- HACKER, J.; BLUM-OEHLER, G.; MUHLSDORFER, I.; TACHAPE, H.: «Pathogenicity islands of virulent bacteria: Structure, function and impact on microbial evolution». *Mol. Microbiol.* 1997; 23: 1089-1097.
- HULTGREN, S. J.; NORMARK, S.; ABRAHAM, S. N.: «Chaperone-assisted assembly and molecular architecture of adhesive pili». *Annu. Rev. Microbiol.* 1991; 45: 383-415.
- HUNG, C. S.; BOUCKAERT, J.; HUNG, D.; PINKNER, J.; WIDBERG, C.; DEFUSCO, A.; AUGUSTE, C. G.; STROUSE, R.; LANGERMANN, S.; WAKSMAN, G.; HULTGREN, S. J.: «Structural basis of tropism of *Escherichia coli* to the bladder during urinary tract infection». *Mol. Microbiol.* 2002; 44: 903-915.
- JOHANSON, J. M.; PLOS, K.; MARKLUND, B. I.: «*Pap*, *papG* and *prsG* DNA sequences in *Escherichia coli* from the fecal flora and the urinary tract». *Microb. Pathog.* 1993; 15: 121-129.
- JOHNSON, J. R.: «Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection». *Clin. Microbiol. Rev.* 1991; 4: 80-128.
- KUEHN, M. J.; HEUSER, J.; NORMARK, S.: «P pili in uropathogenic *E. coli* are composite fibres with distinct fibrillar adhesive tips». *Nature.* 1992; 356: 252-255.
- LINDBERG, F.; LUND, B.; JOHANSSON, I.: «Localization of the receptor-binding protein adhesin at the tip of the bacterial pilus». *Nature.* 1987; 328: 84-87.
- MARTÍNEZ, J. J.; HULTGREN, S. J.: «Requirement of Rho-family GTPases in the invasion of Type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*». *Cell Microbiol.* 2002; 4: 19-28.
- Mulvey, M. A.: «Adhesion and entry of uropathogenic *Escherichia coli*». *Cell Microbiol.* 2002; 4: 257-271.
- PETRI, W. A.; MANN, B. J.: «Microbial Adherence». En MANDELL, G. L.; BENNET, J. E.; DOLIN, R.: *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5.^a ed. Churchill Livingstone. Philadelphia, 2000, 13-21.
- Salyers, A. A.; Whitt, D. D.: «Bacterial Pathogenesis. A molecular approach». *ASM Press*. Washington. 1994.
- Sobel, J. D.; Kaye, D.: «Urinary Tract Infections». En MANDELL, G. L.; BENNET, J. E.; DOLIN, R.: *Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5.^a ed. Churchill Livingstone. Philadelphia. 2000. 773-805.
- VAN DER WOUDE, M. W.; BRAATEN, B. A.; LOW, D. A.: «Evidence for global regulatory control of pilus expression in *E. coli* by Lrp and DNA methylation: model building based on analysis of *pap*». *Mol. Microbiol.* 1992; 6: 2429-2435.
- VAN DER WOUDE, M. W.; BRAATEN, B. A.; LOW, D. A.: «Epigenetic phase variation of the *pap* operon in *Escherichia coli*». *Trends Microbiol.* 1996; 4: 5-9.

INTERVENCIONES

Prof. Pérez Pérez

En primer lugar deseo felicitar al Prof. Piédrola Angulo por la magnífica exposición que acabamos de escuchar. Me ha impresio-

nado el papel de las adhesinas en la fisiopatogenia de procesos infecciosos y, en consecuencia, desearía preguntarle que desde mi punto de vista de especialista en reproducción animal, estamos considerando el papel de las referidas sustancias (de naturaleza proteica) en el mecanismo íntimo de la penetración del espermatozoide en el ovocito.

Ya el Prof. Botella, al tratar en esta Academia lo que llamó ventanas de implantación, subrayó la importancia de las integrinas o adhesinas en este proceso. Quisiera conocer la opinión del Prof. Piédrola respecto a la hipótesis que por ahora mantenemos referente a que las adhesinas elaboradas por la membrana pelúcida, sirven para fijar a la cabeza del espermatozoide a la referida membrana y condicionan la perforación de la misma para su penetración; de otra parte, las referidas adhesinas fijarían a la cola del espermatozoide evitando su total penetración en el ovocito. Este fenómeno es de singular importancia como avance para mejor conocimiento de la conjugación gamética.

Mi más cordial enhorabuena y sincera felicitación.

Prof. Domínguez Carmona

Nuevamente el Prof. Piédrola nos presenta un importante problema microbiológico con gran repercusión en la clínica y en la epidemiología. Yo quería preguntarle algunas cosas: la primera es la especificidad de los receptores de los factores de adhesión, pues pienso que la que establecen las *E. coli* uropatógenas sobre las sondas serán polímeros de a lo sumo dos monómeros sencillos. Otra pregunta relacionada con ésta es la especificidad de los receptores de la *N. meningitidis*, pues un acariciado proyecto es provocar en convivientes y en personas en riesgo de infectarse con este germen con otras neisserias no patógenas o incluso con la *N. meningitidis* desprovista de factores de adherencia. Hace muchos años estudié el caso de una señora que con su hijo estuvo en Portugal en donde el niño desarrolló una meningitis meningocócica; al regresar a Santiago de Compostela fue sometida, en contra de mi criterio a quimioprofilaxis y, como era de esperar, la señora no tuvo en los siguientes días meningitis, pero sí la tuvo hacia los diez días después; esto me llevó a comparar en los escolares de los colegios en los que habían aparecido casos de meningitis en los escolares contagiados. El resultado fue que la qui-

mioprofilaxis evitaba la enfermedad durante los escasos días en la que se suministró, pero que su empleo determinó, o al menos se asoció, con un espectacular aumento en los siguientes días de la enfermedad. Desde entonces pienso en la nueva vía de prevenir y de tratar infecciones de mucosas mediante el bloqueo de los receptores de microorganismos. Reitero mi felicitación.

Prof. Rey Calero

La espléndida conferencia del Prof. Piédrola merece la más cálida felicitación. Las infecciones del tracto urinario ITU han sido las más frecuentes. En el Epine del pasado año en que se estudian las infecciones nosocomiales, son superadas por las infecciones respiratorias. Pero como la actuación se basa en identificar la población a riesgo, diagnosticar el agente etiológico y prescripción reiterada de antibióticos, suponen una cuantía a precisar en los estudios de coste-beneficio.

Como nos ha indicado muy bien, hay que estudiar los factores predisponentes, como pueden ser en la mujer la cortedad de la uretra, en el niño la facilidad de infección con la flora circundante (variable según edades: en < 2 años, 8 % en niñas, 2 % en niños; en < 6 años, el 6 % y 2 % respectivamente; < 11 años, el 2 % y 1 %), las sondas permanentes, las anomalías anatómicas, la diabetes, los traumatismos, etc. El reflujo es siempre un factor agravante.

Pudiéramos destacar tres aspectos fundamentales. En primer lugar, los **mediadores de la inflamación en relación con el endotelio**, en cuatro familias: *las enzimas plasmáticas* (cascada de las kininas, sistemas de coagulación y fibrinolítico, plasminas), *las citokinas* (IL 1,6,8, TNF α), *quimioquinas* (MIP 1a,b proteínas inflamatorias de macrófagos), *lípidos inflamatorios* (ácido araquidónico, lisoPAF de las plaquetas), etc.

En un segundo apartado **las moléculas de adhesión**, que son proteínas localizadas en las membranas celulares, dependiendo de sus estructuras, se organizan en diversas familias: selectinas, similares a la mucina, globulinas, integrinas, etc., como tan precisa y científicamente nos ha descrito. Las *adhesinas*, en su mayoría como lectinas, son sialoconjugados. Estos sialoconjugados con capacidad hemaglutinante, que fueron descritas como manosa específicas o hemaglutininas, se definen como FIMH en los *E. coli* tipo I, y las que se ligan al ácido siálico SHAs, pueden estar, además del *E. coli* uropatogéni-

co y enterotosigénico, en pseudomonas, bordetellas, *H. pylori* y tantos otros. Es muy importante como las células bacterianas aprenden a reconocer en las células eucariotas a los receptores, con capacidad de activar el 2.º mensajero. El papel de los receptores juega, pues, un papel determinante en el anclaje de los microorganismos. También los virus tienen tal capacidad de adhesión y de hemaglutinación. Los coronavirus ahora con un especial protagonismo reconocen como receptores el antígeno carcinoembrionario, las aminopeptidasas y también residuos de ácido siálico, casi un receptor universal.

Las *integrinas alfa y beta* han caracterizado las ICAM 1,2,3, VCAM, MadCAM, FeCAM, etc. Hay que destacar que se ha pretendido hacer vacunas con pili, ya que si la bacteria carece de ellos, como ocurre en el gonococo, no puede fijarse al epitelio y ejercer su patogenicidad. También se ha pretendido con el CAM 99 para ciertos *E. coli* en patología veterinaria, pero como nos ha explicado muy bien, dada su variabilidad carecen de efectividad.

Un tercer aspecto a comentar: los **factores de virulencia**, como las cepas uropatogenas del *E. coli*, en que la alfa hemolisina (Hly), los factores necrosantes citotóxicos tipo 1 (CNP 1), las hemaglutininas S o R a la manosa, actúan o no en presencia de una solución de manosa, como la MRHA III, IV a,b, expresadas en cepas P fimbriadas o P relacionadas. Los diferentes serogrupos del *E. coli* más frecuentes en estos procesos suelen ser los serogrupos 2,4,6, etc. Otros factores de patogenicidad son las LPS endotoxinas, la cápsula *k*, los antígenos de la pared, que nos ha mostrado de un modo excelente y clarificador.

Ha expuesto con capacidad científica tan interesante tema, con los considerables aspectos de los *islotos asociados de patogenicidad*, con el comportamiento de estos microorganismos, pleno de consideraciones para la práctica médica, pues nos explica muchas de las recidivas de estos procesos y cómo hay que actuar frente a las ITU.

Prof. Espinós Pérez

Después de oír esta excelente y documentada exposición, como otras del Prof. G. Piédrola, no puedo dejar de pensar en las «maravillas de lo creado», así como en la «ordenada complejidad de los seres vivos», lo que pone en duda la idea del caos. Es preciso felicitarle.

Me ha interesado mucho el concepto de «colonización» y de «infección» y, en este caso, el papel tan importante de las «fimbrias» y de los genes que las codifican.

Quería preguntarle que, en la clínica de las infecciones del tracto urinario, nosotros damos mucha importancia al número de colonias, más de 100.000 por ml, tiene valor diagnóstico, en especial si va asociado a la presencia de piocitos (leucocitos adheridos entre sí).

¿Debemos darle ahora valor al marcador genético de la Escheriquia coli? Somos conscientes de que hay bacterias asintomáticas, sin piuria, sin manifestaciones clínicas, que desaparecen espontáneamente. Aún así somos conscientes de la importancia del número de colonias, al igual que ocurre con la carga de meningococos en la rinofaringe o neumococos antes de aparecer el brote de meningitis o de neumonía. ¿Qué nos comenta de todo esto?

¿Qué papel juega la aerobactina, los sideroforos y el hierro en la patología por Escheriquia? ¿Hay lactoferrina en el tracto urinario, como la hay en la mucosa bronquial en donde actúa como atrapador o quelante de hierro?

Me ha parecido muy interesante que haya mencionado al trimetropin-cotrimoxazol como agente eficaz, ya que ahora nadie lo señala en la lucha antibacteriana.

CONTESTACIÓN

Al Prof. Pérez Pérez

Yo de reproducción animal no debo hablar porque no es mi especialidad, pero haciendo una comparación entre el proceso de adherencia bacteriaana a una célula epitelial y el mecanismo de penetración del espermatozoide en el ovocito existe una similitud: la inyección de ADN de una celular en la otra. En ambos casos existen unas adhesinas y unos receptores (en el urotelio en el primer caso, y en la membrana pelúcida en el segundo) que son fundamentales e imprescindibles para receptores es fundamental. Pero creo que deben existir diferencias entre ambos mecanismos, ya que en la adherencia bacteriana al urotelio se trata de la unión entre una célula procariota y una eucariota, mientras que en la fecundación son dos celular eucariotas, las de ambos gametos.

Al Prof. Domínguez Carmona

Como en el discurso he citado, una determinada adhesina puede unirse a más de un receptor, y un receptor puede ser reconocido por diversas adhesinas. Esta situación le es muy favorable a la bacteria en el epitelio urinario. Situación muy distinta es la del epitelio faríngeo, donde a diferencia del urotelio, que en principio es estéril, aquí hay una variada y cuantiosa microbiota normal. La quimioprofilaxis que realizamos para la prevención de la colonización por *Neisseria meningitidis*, puede destruir otras bacterias comensales y saprofitas de la cavidad oral, y favorecer la apertura de receptores, colonización y posterior infección por el meningococo. De ahí los defensores o detractores de la quimioprofilaxis en las epidemias de meningitis epidémica por dicha bacteria. El bloquear receptores específicos de una determinada bacteria es un ideal, pero muchos de ellos son compartidos por otras especies bacterianas.

Al Prof. Rey Calero

Efectivamente, las infecciones urinarias nosocomiales siguen siendo de una alta frecuencia, sólo superada por las respiratorias. La utilización de las sondas urinarias (como la de los catéteres) favorece la formación de un biofilm, con lo que la posibilidad de la adherencia de la bacteria al epitelio es mucho mayor. En el epitelio urinario hay mínimas infecciones víricas, pues aunque existen receptores, el pH ácido y la acción de arrastre de la orina evitan la adherencia de estos microorganismos. Con respecto a las vacunas propuestas con pili, que evitarían la adherencia, como las de *Neisseria gonorrhoeae*, su efectividad hasta ahora no ha sido demostrada, pese a haber sido utilizadas en Madrás (India) por algunos autores, en la prevención de la infección gonocócica.

Al Prof. Espinós Pérez

Es un criterio reconocido por todos los autores el considerar que existe infección urinaria, cuando hay un crecimiento de más de 100.000 colonias por mililitro de orina emitida. Pese a ello, también se deben de tener en cuenta otros criterios a valorar, como si son

de una única bacteria o de varias especies distintas, o el de si la bacteriuria asintomática, podemos predecir con exactitud que terminará en infección urinaria clínica, si en las bacterias se encuentran dichos genes.

El hierro juega un papel importante en la vitalidad de las bacterias, y por eso poseen los sideróforos que extraen del medio en que se encuentran. Esto ha sido demostrado también en el tracto urinario, y en los islotes de patogeneidad antes citados, junto a los genes que condifican los pili, se hallan los de la hemolisina, el factor necrotizante y la aerobactina, sideróforo fundamental para proporcionar el hierro necesario a la bacteria.

Quiero, por último, agradecer a todos los que han intervenido el interés que han demostrado, y sus palabras de elogio, claramente inmerecidas, pues el estudio continuo de los temas de nuestra especialidad, no es más que una gustosa obligación.

VARIABILIDAD GENÉTICA DEL VIRUS DE LA HEPATITIS C Y SU RELACIÓN CON LA CLÍNICA Y EL TRATAMIENTO

GENETIC VARIABILITY OF THE VIRUS OF THE HEPATITIS C AND THEIR RELATIONSHIP WITH THE CLINIC AND THE TREATMENT

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

Académico de Número

Resumen

Se estudian las principales características del genoma del virus de la hepatitis C, en especial aquellas partes tales como el IRES por su capacidad de unión al ribosoma de la célula, el HVR1 por su alta capacidad de replicación vírica, así como el sitio de unión a la PKR o el ISDR, dentro de la proteína NS5. Se definen los conceptos de genotipo, subtipo y cuasiespecie, y sus implicaciones en distintos aspectos tales como: 1) La patogenicidad (en la severidad del proceso infeccioso, en las manifestaciones extrahepáticas y en la aparición del hepatocarcinoma); 2) En la mayor o menor sensibilidad de las técnicas diagnósticas; 3) En la resistencia al tratamiento con interferón (bien a través de la vía NS3 o NS5, tanto a través de los cambios en PKR o las mutaciones en ISDR), y 4) en la epidemiología (cambios de variabilidad geográfica, utilización de esa variabilidad como marcador epidemiológico y dificultad de obtención de vacunas).

Abstract

The main characteristics of the genome of the virus of the hepatitis C is studied, especially those such parts as the IRES for its capacity of union to the ribosome of the cell, the HVR1 for its high capacity of viral replication, as well as the place of union to the PKR or the ISDR, inside the protein NS5. They are defined the genotype concepts, subtype and quasispecies, and their implications in different such aspects as: 1) pathogenicity (in the severity of the infectious process, in the extrahepatic manifestations and in the

appearance of the hepatocarcinoma); 2) in the biggest or smaller sensibility in the diagnostic techniques; 3) in the resistance to the treatment with interferon (well through the road NS3 or NS5, so much through the changes in PKR or the mutations in ISDR), and 4) in the epidemiology (changes of geographical variability, use of that variability like epidemic marker and obtaining difficulty of vaccines).

El virus de la hepatitis C fue inicialmente reconocido como el agente productor de la hepatitis no-A, no-B, y clonado de forma posterior (Choo 1989). Presenta una frecuente tendencia a la cronicidad en forma de cirrosis, hepatocarcinoma, etc., y su prevalencia es muy elevada, calculándose el número de infectados entre 170 y 200 millones (Lauer 2001). Esta prevalencia varía según los distintos países, su grado de desarrollo, e incluso las diferentes zonas y circunstancias sanitarias dentro de un mismo país.

Virus VHC

Como es lógico, no vamos a hacer un estudio en profundidad del virus, pero sí es necesario conocer algunas de sus características, con la finalidad de poder entender claramente el grave problema de su variabilidad genética (fig. 1). Es un virus ARN, de polaridad positiva, con 9.5 Kb, y un tamaño que oscila entre 55 y 65 nm. Tiene una cápside proteica y una envuelta, y taxonómicamente se encuentra encuadrado en los Flavivirus, aunque hoy en día se considera un nuevo género, el de los Hepacivirus. Como veremos más adelante, presenta una serie de genotipos, subtipos y cuasiespecies.

El genoma contiene un gran marco abierto de lectura único (fig. 2) de aproximadamente 3000 aa, flanqueados por regiones no traducidas altamente conservadas 5' y 3' UTR. De las dos, 5' es la mejor conservada, la que menos varía, con analogías superiores al 98%, y cuya principal función es permitir la unión del ribosoma de la célula huésped al ARN vírico en la estructura conocida como IRES.

Presenta dos regiones: una estructural, y otra no estructural. La primera es capaz de codificar las proteínas de la cápside (C) y las gp 31 y 70 (E_1 y E_2) de la envuelta. Queremos destacar que entre estas E_1 y E_2 se encuentra la zona denominada HVR_1 (hipervariable) de la que hablaremos posteriormente, por su elevada facilidad de escape al sistema inmunitario, y, por lo tanto, su capacidad de

Virus de la Hepatitis C (VHC)

Identificado en 1989

Flavivirus

ARN (+) 9.5 kb

Genotipos

Subtipos

Cuasiespecies



Complejo E1/E2

Envuelta

Capside

ARN

55-65 nm

FIGURA n.º 1.

VHC: genoma y replicación

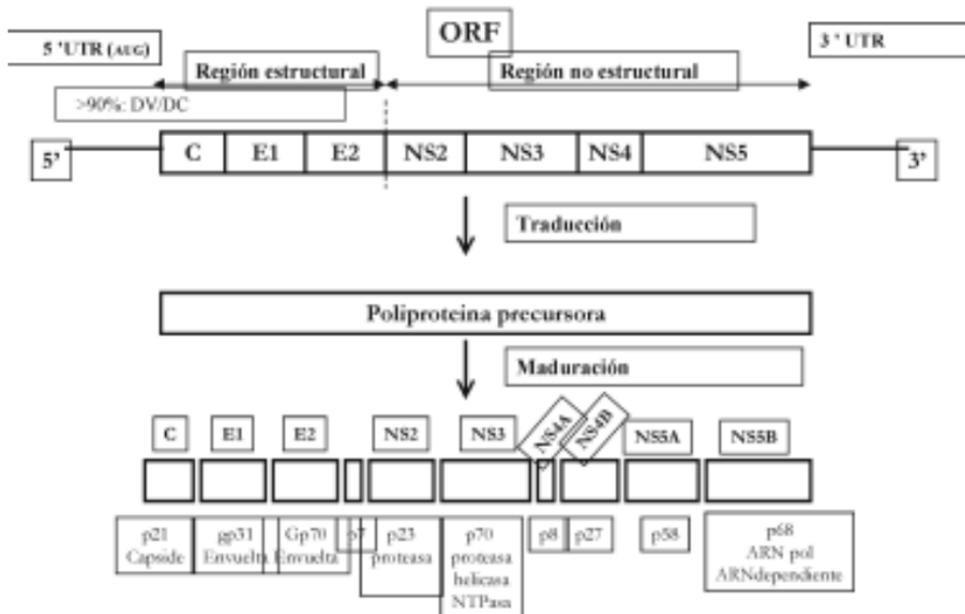


FIGURA n.º 2.

Proteína HCV NS5A (AS 1973-2419)

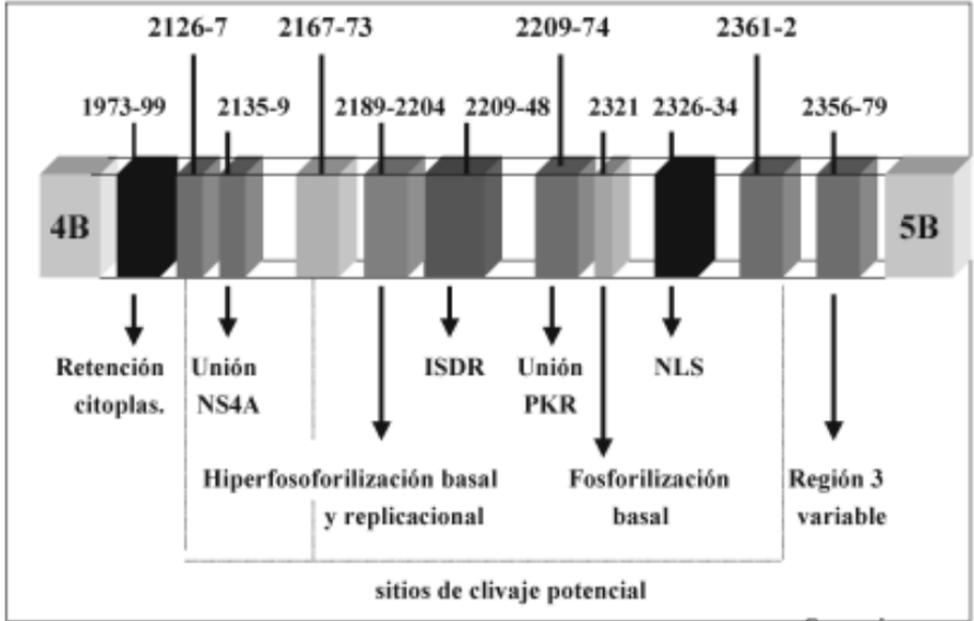


FIGURA n.º 3.

influencia en la aparición de infecciones persistentes y de fracasos terapéuticos. La segunda región, no estructural, codifica para toda una serie de enzimas con acción proteasa, helicasa, ARN polimerasa ARN dependiente, etc. Dentro de esa región, es importante reseñar el papel de NS₃ y, sobre todo, NS₅, por presentar el sitio de unión a PKR (Proteinkinasa) y la zona ISDR (región determinante de la sensibilidad a Interferón), ambas implicadas en los fenómenos de variabilidad y resistencia al tratamiento (fig. n.º 3). El virus tiene una vida media de 2.5 h en sangre, con una alta producción diaria, de 1.0x10¹² en los casos de infección crónica (por lo tanto, superior incluso a la del VIH).

Variabilidad genética

El concepto de cambio, de mutación, existe en la naturaleza desde siempre, pero, en este sentido, los microorganismos juegan con ventaja. Así, mientras que para que se produzca una nueva generación en la especie humana se necesitan aproximadamente 30

años, en las bacterias ocurre cada hora, y, en los virus, se hace todavía de forma más rápida, sobre todo en los ARN. Ahora bien, ¿por qué se produce esta variabilidad?. Preferentemente por tres razones:

1. Por incorporaciones erróneas de nucleótidos en los procesos de replicación debido a una falta de actividad correctora en las enzimas que regulan el proceso (replicasas, retrotranscriptasas, etc.).
2. Por recombinaciones homólogas entre virus con secuencias parecidas.
3. Por recombinaciones no homólogas entre virus de secuencias diferentes.

Todo esto quiere decir que de una célula infectada por un virus, se pueden obtener, a lo largo del tiempo, toda una serie de genomas víricos que estarían muy relacionados pero que no necesariamente deben ser iguales.

Conceptos genéticos sobre el VHC

En el VHC puede haber una elevada heterogeneidad de secuencias en diferentes individuos (variaciones de genotipo, subtipo y aislado) ó en el mismo individuo (cuasiespecies).

Según el grado de homología existente en sus genomas, decimos que pertenece al mismo genotipo cuando esa homología varía entre el 66-69% (o si se quiere, difieren en un 30%); dentro de un mismo genotipo, si el 77-80% son homólogos, hablamos de subtipo; dentro del subtipo, si la homología es del 91-95%, hablamos de aislado. Y, por fin, si la homología es muy alta (superior al 98%), (tabla nº 1) hablamos de cuasiespecies. Entendemos pues por cua-

Virus de la Hepatitis C

Clasificación Molecular	
Categorías	Homología (%)
• Genotipo	66-69
• Subtipo	77-80
• Aislado	91-95
• Cuasiespecies	>98

TABLA n.º 1.

siespecies, la existencia de genomas víricos **no** idénticos, pero genéticamente muy cercanos, que se hallan sometidos a procesos de variación, combinación y selección.

Por otra parte, existen diferentes grados de homología entre las diferentes regiones. Por ejemplo, la homología entre E_1 y NS_5 , que va subiendo según sean distintos genotipos, con igual genotipo y distinto subtipo, o con igual genotipo y subtipo, pero distinto aislado. Evidentemente la homología en estos últimos es más alta y, sin embargo, en las zonas de alta replicación de E_2 es más baja.

Genotipos

VHC estaría dividido en 11 genotipos (representados por números arábigos) y al menos 80 subtipos representados por letras como subíndices, aún cuando cada día se describen nuevos subtipos. Todos ellos estarían distribuidos geográficamente según la influencia de una serie de factores:

1. Influencia y selección inmune ya que, por ejemplo, algunos viriones tienen mutaciones en $E2$ que impiden la acción de anticuerpos neutralizantes.
2. Los diferentes patrones de infección.
3. La mayor o menor capacidad o eficacia de su replicación.
4. La posible influencia (como ocurre en el VIH), de las migraciones poblacionales.

Implicaciones de la variabilidad genética del VHC

Las diferentes implicaciones de la variabilidad del VHC se producen en: la patogenicidad, el diagnóstico, los fenómenos de resistencia al tratamiento, así como en la epidemiología del mismo (Lunel, 1998).

1. *Importancia en la patogenicidad*

1.1. *En la severidad de la infección:*

De todos los genotipos, el 1b evoluciona más fácilmente a cirrosis y hepatocarcinoma (Benvegnu, 1997). Asimismo, la coinfección

por muchos genotipos puede estar implicada en formas más severas, aún cuando este hecho hay que tomarlo con extrema prudencia. Algo similar ocurre en la relación con las cuasiespecies. Por ejemplo, se ha demostrado que la región HVR₁ del VHC (de alta replicación) contiene ciertos epitopos que podrían seleccionar mutantes capaces de escapar al sistema inmune. En general, podemos decir que existe un alto número de cuasiespecies en función de la severidad del proceso, y que las hepatitis agudas resolutivas tienen un número de cuasiespecies menor que las crónicas activas (Farci, 1997).

Por otra parte, se ha comprobado (Fukuda, 2001) que en los genotipos 1b es más frecuente encontrar hepatitis B oculta (es decir, aquella que es ADN positiva, HBsAg negativas) y con una peor respuesta a interferón. Igualmente estaría relacionado con hepatitis fulminantes (Hu, 2002).

1.2. *En las manifestaciones extrahepáticas:*

Existen numerosos estudios que asocian la infección VHC con, especialmente, la crioglobulinemia (Agnello, 1997), aún cuando no es bien conocida su relación con los diferentes genotipos. En cualquier caso, una alta variabilidad podría ser responsable de ciertas manifestaciones autoinmunes como la citada crioglobulinemia, los autoanticuerpos y los complejos inmunes.

1.3. *En la aparición del Hepatocarcinoma (HCC):*

Como ya sabemos, un altísimo porcentaje de individuos infectados por VHC evoluciona a hepatitis crónica, y hepatocarcinoma.

La PKR (proteína mayor inducida por Interferón), se considera un gen supresor de tumores, controlador de la homeostasis y del crecimiento celular. En ciertas condiciones, la interacción de PKR con la zona NS₅ del virus conlleva su inactivación, lo que facilitaría el desarrollo del hepatocarcinoma (figura nº 4). Esto ocurre preferentemente en el genotipo 1b, pero también se ha estudiado en otros genotipos. Por otra parte, la expresión de otra región de VHC en determinadas líneas celulares, la NS₃, han inducido tumores en algunos modelos experimentales.

Estos hechos, unidos a los de Chang (1998) que publicó la posible relación entre las proteínas del core y la transformación en celular de roedores, así como las de Marusawa (1999) en el que dichas proteínas conferirían a las células infectadas un aumento de

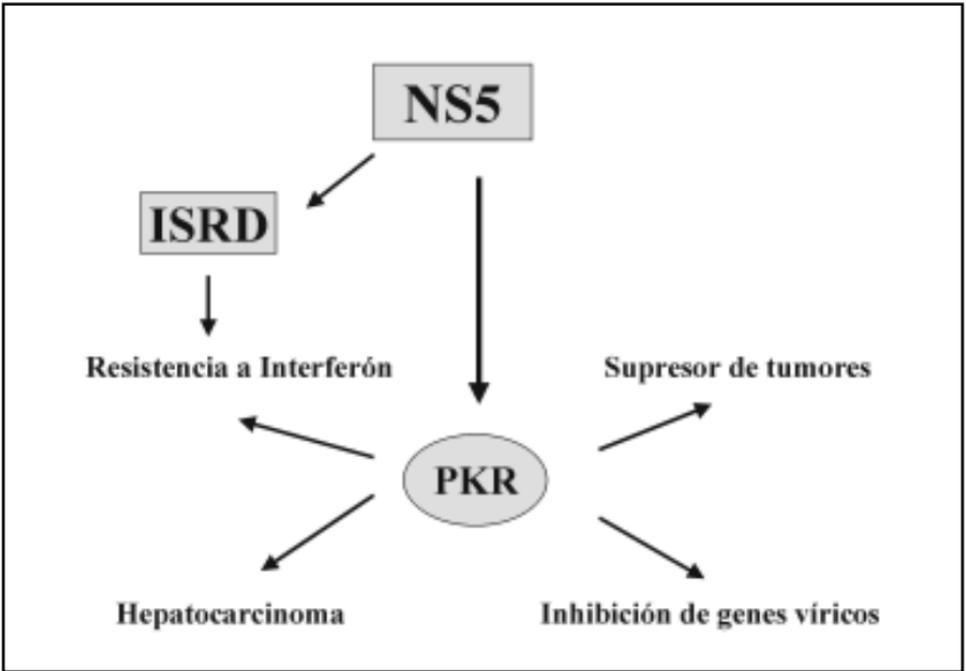


FIGURA n.º 4.

resistencia frente a los fenómenos de apoptosis, llevaron a comprobar la existencia de mutaciones en zonas más específicas. En este momento, existen varios grupos que presentan incluso diferencias notables en sus resultados. El grupo más antiguo, encabezado por Shimizu (1997), encontró diferencias significativas entre individuos con HCC y no HCC en relación a la aparición de mutaciones en la región hidrofílica situada entre los aminoácidos 39-76. Otro grupo, encabezado por Ruster (1956), encuentra mutaciones cerca de la región N terminal y, por el contrario, Giménez Barcons (2001) no encuentra diferencias significativas estudiando los 80 residuos terminales de esa misma región N terminal, hecho también encontrado por Ogata este mismo año (2002).

Por otra parte, el mismo Ogata, estudiando otras regiones (aminoácidos 1-20 y 141-160), sí encuentra diferencias claras, sugiriendo incluso que el hecho de encontrarlas tanto en tejidos cancerosos como no cancerosos implicaría que su desarrollo podría ser anterior a la aparición del hepatocarcinoma. El estudio de las otras regiones del core presentó algunas mutaciones, pero sin carácter significativo.

Para finalizar este apartado, es necesario comentar algunos de los últimos y más recientes avances en el campo de la variabilidad entre individuos con HCC y no HCC.

En el año 2001, Xu describió la existencia de una proteína, F, que es un producto del "frame-shift" de algunas cepas 1b en la zona del core y cerca del codón 11. Pues bien, Ogata (2002), estudiando esta proteína, no encontró diferencias significativas, aun cuando sí destaca la existencia de un mayor número de mutaciones. Por otra parte, Horie (1995-1997), encontró diferencias en el estudio del codón 45, de tal forma que los individuos con HCC tendrían una glicina, mientras que los no HCC tendrían una serina, y nuevamente Sahoshi Ogata (2002) insiste en que en dicho codón 45, la glicina estuvo conservada en todos los aislados.

2. *Importancia en el diagnóstico*

La mayoría de las técnicas utilizadas como screening se fabrican a partir de proteínas del genotipo 1, por lo que esto puede representar una falta de sensibilidad. Por otra parte, los tests moleculares, sobre todo los de cuantificación vírica pueden asimismo verse influenciados por los genotipos. Esto se ha visto en algunos kits como el DNA-b o el Monitor (Hawkins, 1997).

3. *Importancia en el tratamiento*

La respuesta a IF está claramente ligada al genotipo, de tal manera que los del genotipo 1 responden peor que los del 2 y 3. En cambio, el papel de los subtipos es menos claro. El por qué se produce este fenómeno se puede explicar por distintos mecanismos:

3.1. *Vía NS₅:*

Según vemos en la fig. nº 4, la PKR es una proteína que además de ser supresora de tumores, es capaz también de bloquear la expresión de los genes víricos. La interacción de PKR con la región NS₅-A puede inhibir la autofosforilización de dicha enzima y, secundariamente, su actividad kinasa. Existe, pues una interacción entre la proteína NS₅-A de los genotipos 1a y 1b, y el sitio catalítico de PKR, siendo éste el primer mecanismo descrito por el que el virus podría hacerse resistente al interferón.

Por otra parte, ya Enamoto (1996) publicó el incremento de mutaciones en una región NS₃-A denominada ISDR, preferentemente situada entre los aminoácidos 2209-2248 en los aislados de individuos 1b (malos respondedores), y que el estudio de ISRD podría permitir predecir el tipo de respuesta. En esta misma línea se encuentra Sarrazin (2002) que en un reciente trabajo encontró que el principal foco de mutaciones relacionadas con la respuesta al interferón se encontraba en las regiones 2350-2390.

En cualquiera de los casos, creemos importante reseñar que por la simple cuenta de mutaciones es difícil establecer una relación completa con la respuesta, porque la observación de acúmulos de mutaciones varía según el número de regiones del genoma que hayan sido estudiadas.

3.2. Vía NS₃:

Muy recientemente, Lam (2003), estudiando la región NS₃ (con acción ATPasa helicasa), ha encontrado en individuos infectados tres tipos de clones (fig. n.º 5) procedentes, del genotipo 2a (buenos respondedores) y de los 1a y 1b (no respondedores). Pues bien, aunque la diferencia de secuencias entre todos los genotipos era muy



FIGURA n.º 5.

pequeña (alrededor del 15%), existía una variación clara en el residuo 450 que condicionaba la respuesta al tratamiento. En el caso de los respondedores, el aminoácido era una isoleucina y en el de los no respondedores, una treonina.

4. *Epidemiología*

4.1. *Variabilidad geográfica:*

La historia de la epidemiología del VHC está basada en la tasa de cambio de sus secuencias nucleotídicas, y según ciertos autores (Smith, 1997) y a partir de modelos matemáticos, el primer ancestro común del VHC se remontaría a más de 2000 años. La divergencia de genotipos sería desde hace 500 años y las diferencias entre 1a y 1b se remontarían a 300 años. En este momento existe una gran divergencia geográfica que se explicaría por los movimientos poblacionales, la existencia de la drogadicción y la contaminación por transfusiones sanguíneas.

La distribución mundial de genotipos es muy variada según los diferentes países siendo el 1, 2 y 3 los responsables de la mayoría de las hepatitis en Europa Occidental, USA y Japón. El 4 es más frecuente en Africa del Norte, Central y Medio Oriente. El 5 predomina en Africa del Sur, y del 6 al 11 en el Sudeste Asiático. En España, igualmente puede haber diferencias, aún cuando el más frecuente sigue siendo el 1b (Alonso 1997, Touceda 2000, Sola 2002, Rubio 2001, Bover 2001), dependiendo también de los grupos de riesgo. En un estudio de nuestro Departamento (del cual presentamos algunos datos en una comunicación anterior) encontramos un 26% del 1a (preferentemente en adictos a drogas por vía parenteral), 59% del 1b, 9% del 3a, 1% del 4a y un 7% mixtos. Algo similar ocurre cuando lo estudiamos en individuos VIH (la mayoría drogadictos) en los que existe una gran diferencia respecto al grupo control ($p < 0.01$) a costa de una menor presencia de 1b. Estos individuos 1b fueron más virémicos y con un grado más severo de hepatitis crónica (García 1996, Maroto 2001).

4.2. *Los genotipos como trazadores epidemiológicos:*

El estudio de los genotipos puede ser útil para el control de migraciones o del comercio de productos sanguíneos, pero en ambos casos este tipo de estudio es poco determinante para analizar

la transmisión entre individuos o para comprobar una contaminación por la misma cepa. Para eso son necesarios estudios filogenéticos más profundos a partir de diferentes regiones (HVR1-E2), lo que nos permitiría conocer la transmisión nosocomial, sexual o materno-filial.

4.3. *Vacunaciones:*

La gran variabilidad del VHC hace muy difícil la puesta a punto de un vacuna útil. Según diferentes estudios hechos en chimpancés, existen anticuerpos neutralizantes sólo específicos de cepa, por lo que sería necesario hacer "sopas" (Lunel, 1997) de antígenos que pertenecieran a diferentes cepas. Otra dificultad añadida sería la ausencia de un modelo animal (fuera del chimpancé), así como de sistemas eficaces de cultivo. No obstante, existen diferentes líneas de investigación abiertas utilizando proteínas de distintas zonas del core y vehiculizadas incluso por otros virus (Ezello, 2002).

Conclusiones

Como hemos podido comprobar, existe en el VHC una gran variabilidad genética, pero también existe una gran variabilidad de criterios en la forma de estudiarla, así como en su interpretación. Por lo tanto, es difícil establecer unos parámetros que relacionen dicha variabilidad con la evolución del proceso clínico y la mejor o peor respuesta al tratamiento..

Las razones a todo esto son muy variadas, pero se podrían resumir en tres:

1. En primer lugar, la diferente metodología empleada por los diferentes autores, ya que no es lo mismo manejar técnicas de amplificación de la polimerasa (PCR), técnicas de hibridación o técnicas de secuenciación. Por ejemplo, nosotros, comparando las dos últimas, encontramos una total concordancia para la determinación de genotipos, pero con peores resultados en el caso de la hibridación para subtipos, ya que esta técnica no era capaz de discriminar el 100% de los casos.

2. Las diferentes zonas del genoma estudiadas.

3. Las diferentes muestras de las cuales podemos partir para el estudio. Por ejemplo, en suero se encuentran casos positivos con menor frecuencia que en hígado, no guardando muchas veces un

paralelismo claro entre ellos, en el propio hígado, o en células mononucleares de sangre periférica (PBMC). En este momento se piensa que precisamente estos últimos pueden comportarse como reservorios para las variantes que han desaparecido del hígado como consecuencia de la presión del sistema inmune.

BIBLIOGRAFÍA

- ALONSO, P.; ORDUÑA, A.; SAN MIGUEL, A.; DOMÍNGUEZ, E.; BRALUZ, M.; GUTIÉRREZ, M.; EIROS, J.M.; INGLODA, L.; GONZÁLEZ, J.M.; RODRÍGUEZ TORRES, A.: «Relation of hepatitis C virus genotypes to risk factors and hepatic disease in Spanish patients». *Clin. Microb. Infect.* 1997. Feb.; 3 (6): 647-652.
- AGNELLO, V.: «The etiology and pathophysiology of mixed cryoglobulinemia secondary to hepatitis C virus infection». *Springer Semin. Immunopathology.* 1997; 19 (1): 111.
- BABIK, J.; HOLODNY, M.: «Impact of highly active antiretroviral therapy and immunologic status on hepatitis C virus quasispecies diversity in human immunodeficiency virus/Hepatitis C virus-coinfected patients». *J. Virol.* 2003. Feb. 1940-1950.
- BENVENGU, L.; PONHSSO, P.; COVALETTI, D.; NOVENTA, F.; CHEMELLO, L.; ALBERTI, A.: «Lack of correlation between hepatitis C virus genotypes and clinical course of hepatitis C virus-related cirrhosis». *Hepatology.* 1997; 25: 211-215.
- CHANG, J.; YANG, H.; CHO, G.; HWANG, B.; HAHN, S.; SUNG, C.: «Hepatitis C virus core from two different genotypes has a oncogenic potential but not sufficient for transforming primary rat embryo fibroblasts in cooperation with the virus oncogene». *J. Virol.* 1998; 72: 3060-3065.
- CHAO, Q.; KUO, G.; WEINER, A.; OVERBY, L.; BRADLEY, D.; HOUGHTON, M.: «Isolation of a C DNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B viral hepatitis genome». *Science.* 1989, 244: 359-362.
- DAVIS, G.: «Hepatitis C virus genotypes and quasispecies». *Am. J. Med.* 1999. 107 (suppl. 6 B): 215-265.
- ENAMOTO, N.; SAKUMA, Y.; ASAHIMA, M.; KUROSAKI, T.; MURAKAMI, C.; YAMAMOTO, C.; IZUMI, N.; MARUMO, F.; SATO, C.: «Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b. Sensitivity to interferon is conferred by aminoacid substitutions in the NS5a region». *J. Clin. Invest.* 1995; 96: 224-230.
- ENAMOTO, N.; SAKUMA, Y.; ASAHIMA, M.; KUROSAKI, T.; MURAKAMI, C.; YAMAMOTO, C.; IZUMI, N.; MARUMO, F.; SATO, C.: «Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection». *N. Engl. J. Med.* 1996; 334: 77-81.
- EZELLO, H.; MARKOVIC, D.; BARBER, G.: «Generation of hepatitis C virus-like particles by use of a recombinant vesicular stomatitis virus vector». *Journal of virology.* Dec. 2002: 12325-12334.
- FARCI, P.; BUKH, J.; PURCELL, R.H.: «The quasi-species of hepatitis C virus and the host immune response». *Springer. Semin. Immunopathol.* 1997; 19 (1): 5-26.

- FUKUDA, R.; ISHIMURA, N.; HAMAMOTO, S.; MORITONI, M.; VAHIDA, J.; ISHIHARA, S.; AKAGI, S.; WATANABE, M.; KINOSHITA, J.: «Coinfection by serologically silent hepatitis B virus may contribute to poor interferon response in patients with chronic hepatitis C by down regulation of type-I interferon receptor gene expression in the liver». *J. Med. Virol.* 2001; 63: 220-227.
- GARCÍA, F.; ROLDÁN, C.; HERNÁNDEZ-QUERO, J.; BERNAL, M.C.; MARTÍNEZ, M.A.; LÓPEZ, M.A.; PIÉDROLA, G.; MAROTO, M.C.: «Relation ship between viral genotype and viral load in patients with chronic hepatitis C». *Europ. J. Clin. Microb. Inf. Dis.* 1996; 15: 884-887.
- GIMÉNEZ BARCONS, M.; FRANCO, S.; SUÁREZ, Y.; FORNS, X.; AMPURDENES, S.; PUIG-BASA SORTI, F.; SÁNCHEZ-FUEYO, A.; BARRERA, J.M.; LLOVET, J.M.; BRUIX, J.; SÁNCHEZ TAPIAS, J.M.; RODES, J.; SÁIZ, J.: «High aminoacid variability within the NS5A of hepatitis C virus (HCV) is associated with hepatocellular carcinoma in patients with HCV.1b related cirrhosis». *Hepatology.* 2001; 34: 158-167.
- GÓMEZ, J.; CABOT, B.; NADAL, A.; PIRON, M.; ESTEBAN, J.; MARTELL, M.: «Virus de la hepatitis C: viabilidad genética y estructura del RNA». *Virología.* 1999, 6; 12: 31-49.
- HAWKINS, A.; DAVIDSON, F.; SIMMONDS, P.: «Comparison of plasma virus loads among individuals infected with hepatitis C virus (HCV) genotypes 1, 2 and 3 by quantiplex HCV RNA assay version 1 and 2 Roche monitor assay and an inhouse limiting dilution method». *J. Clin. Microb.* 1997; 35: 187-192.
- HORIE, C.; IWAHANA, H.; HORIE, I.; SHIMIZU, I.; YOSHIMOTO, S.; YOGITA, S.; TASHIRO, S.; ITO, S.; ITAKURA, M.: «Detection of different quasiespecies of hepatitis C virus core region in cancerous and non cancerous lesions». *Biochem. Biophys. Commun.* 1996; 218: 674-681.
- HORIE, T.; SHIMIZU, I.; HORIE, C.; YASUDA, M.; YOGITA, S.; TASHIRO S.; ITO, S.: «Mutations of the core gene sequence of hepatitis C virus isolated from liver tissues with hepatocellular carcinoma». *Hepatol. Rev.* 1999, 13: 240-251.
- HU KE-QUIN: «Occult hepatitis B virus infection and its clinical implications». *J. Viral. Hepatitis.* 2002; 9: 243-257.
- JOVER, R.; PÉREZ-SERRA, J.; DE VERA, F.; ALAMO, J.M.; MUÑOZ, C.; YAGO, C.; MARTÍNEZ-RAMÍREZ, R.; VIDAL, J.: «Infection by genotype 5A of HCV in a district of southeast Spain». *Am. J. Gastroenterol.* 2001. Oct. 96 (10); 3042-3043.
- LAM, A.; KEENEY, D.; ECKERT, P.; ENCK, D.: «Hepatitis C virus NS3 ATPases/helicases from different genotypes exhibit variations in enzymatic properties». *J. of. Virol.* 2003, Ap: 3950-3961.
- LAUER, G.; WALKER, D.: «Hepatitis C virus infection». *N. Engl. J. Med.* 2001; 345: 41-52.
- LUNEL, F.; STUYVER, K.; BRECHOT, C.; MAERTENS, G.: «Mise au point sur le virus de l'hépatite C: variabilité et implications». *Transfus. Clin. Biol.* 1998; 5: 147-165.
- MAROTO, M.C.: «Estudio de los genotipos víricos en diferentes procesos infecciosos». *R. Acad. Nac. Med.* 2001. CXVIII, 2.º; 363-376.
- OGATA, S.; NAGANO-FUJII, M.; KU, Y.; YOON, S.; HOTTA, H.: «Comparative sequence analysis of the core protein and its frameshift product, the F pro-

- tein, of hepatitis C virus subtype 1b strains obtained from patients with and without hepatocellular carcinoma». *J. Clin. Microb.* 2002. Oct. 3625-3630.
- RUBIO, M.; RUBIO, C.; NOGUEZ, A.; MONONELLES, A.: «Genotipos del virus de la hepatitis C. Estudio de 302 pacientes coinfectados con el virus de la inmunodeficiencia humana». *Med. Clin.* (Barc.). 2001. Mayo 12; 116 (17): 650-651.
- RÜSTER, B.; ZEUZEN, S.; KRUMP-KONVALINKOVA, V.; BERG, T.; JONOS, S.; SEVERIN, K.; ROTH, W.: «Comparative sequence analysis of the core and NS5 region of hepatitis C virus from tumor and adjacent non tumor tissue». *J. Med. Virol.* 2001; 63: 128-134.
- SARRAZIN, C.; BERG, T.; LEC, J.; TEUBER, G.; DIETRICH, F.; ROTH, K.; ZEUZEN, S.: «Improved correlation between multiple mutations within the NS5A region and virological response in European patients chronically infected with hepatitis C virus type 1b undergoing combination therapy». *J. Hepatol.* 1999; 30: 1004-1013.
- SARRAZIN, C.; BERG, T.; LEE, J.; RUSTER, B.; KRONENBERG, B.; ROTH, K.; ZEUZEN, S.: «Mutations in the protein kinase-binding domain of the NS5A protein in patients infected with hepatitis C virus type 1a are associated with treatment response». *J. Infect. Dis.* 2000, 181: 432-441.
- SARRAZIN, C.; HERRMANN, E.; BRUCH, K.; ZEUZEN, S.: «Hepatitis C virus nonstructural 5A protein and interferon resistance. A new model for testing the reliability of mutational analyses». *J. Virol.* 2002. Nov. 11079-11090.
- SHIMIZU, I.; YAO, D.; HORIE, C.; YASUDA, M.; SHIBA, M.; HORIE, T.; NISHIKADO, T.; MENG, X.; ITO, S.: «Mutations in a hydrophilic part of the core gene of hepatitis C virus in patients with hepatocellular carcinoma in China». *J. Gastroenterol.* 1997; 32: 47-55.
- SMITH, D.; PATHIRINA, S.; DAVIDSON, F.; LAWLER, E.; POWER, J.; LEE, J.; SIMMONDS, P.: «The origin of hepatitis C virus genotypes». *J. Gen. Virol.* 1997; 78: 321-328.
- SOLA, R.; CRUZ DE CASTRO, E.; HOMBRADOS, M.; PLANAS, R.; COLL, S.; JORDI, R.; SUNYER, M.; MORRUTGAT, J.: «Prevalence of hepatitis B and hepatitis C viruses in different countries of catalonia, Spain: cross sectional study». *Med. Clin.* (Barc.). 2002. Jun. 22; 119 (3): 90-95.
- THOMAS, D.; LEMON, S.: «Hepatitis C», en: *Enfermedades Infecciosas*. MANDELL, G.; BENNETT, J.; DOLIN, R., 2000. Churchill Livingstone. 5.^a ed. 2117-2144.
- TOUCEDA, S.; PEREIRA, M.; AGULLA, A.: «Prevalencia de genotipos del virus de la hepatitis C en el área de El Ferrol (La Coruña, España)». *Enf. Inf. Microb. Clin.* 2000, Mayo; 20 (5): 2000-2004.
- XU, Z.; CHOI, J.; YEN, T.; LU, W.; STROHECKER, A.; GOVINDARAJON, S.; CHREN, P.; SELBY, M.; OU, J.: «Synthesis of a novel hepatitis C virus protein ribosomal frameshift». *EMBO J.* 2001; 20: 3840-3848.
- ZIGNEGO, M.; FONTONA, R.; PULTI, S.; BORBAGLI, S.; MONTI, M.; CARECCIA, G.; GIANNELLI, F.; GIANNINI, C.; BUZZELLI, G.; ROSSENS, M.; BONINO, F.; GENTILINS, P.: «Relevance of inapparent coinfection by hepatitis B virus in interferon treated patients with hepatitis C virus chronic infection». *J. Med. Virol.* 1997; 51: 313-318.

INTERVENCIONES

Prof. Domínguez Carmona

Me viene a la memoria, después de escuchar la magnífica conferencia de la Profesora Maroto, aquello de los Reyes Católicos que todos Vds. conocen: «Tanto monta monta tanto Mari Carmen como Gonzalo». No pensaba intervenir, pues entre lo mucho que ignoro, la genética de los virus ocupa un lugar importante. Sin embargo, mientras escuchaba el cerebro daba vueltas al tema. Cuando se determina el genotipo de un virus que se ha aislado de un enfermo, sea el VHC o el VIH, etc., hay que tener en cuenta que junto al aislado hay otros muchos que, por su escasa prevalencia, han tenido pocas probabilidades de haberse aislado y la enfermedad se ha podido producir por todos ellos, pero es posible que alguna de las variantes, aunque sean irrelevantes para el desarrollo del cuadro. En rigor no habría un solo genotipo al que se pueda atribuir la enfermedad, sino a una pléyade de variantes de los mismos, cada uno de los cuales tiene una proporción en el conjunto de esos virus. Naturalmente, la aparición de mutantes y recombinaciones no quiere decir que se mantengan, pues, como nos acaba de explicar, hay diversos mecanismos, especialmente la selección natural que sólo deja unos pocos; pero sigo con mi pensamiento. Si, como nos ha dicho, el VHC produce al día unas 3.000 variantes, al menos podemos presumir que queden tres o cuatro, etc. y al segundo día otras 3.000 variantes más las procedentes de aquellos 3 ó 4 que quedaron del primer día, y así sucesivamente. Cuando se identifica el genoma del virus causal, la probabilidad mayor es que se analice el más prevalente, pero eso no excluye la existencia de los demás. Por lo tanto, creo que es un salto psicológico en la asignación patogénica de una determinada secuencia un efecto dado como pudiera ser la hepatocancerogénesis, basándose en la asociación de la variante principal con la presentación de la enfermedad, pues bien pudiera ocurrir que la causa fuera una o varias secuencias de las variantes genotípicas minoritarias. La importancia de estas variantes excede la propia patogenia, pues a ellas pudiera deberse la emergencia de nuevos virus patógenos como la reciente epidemia de gripe aviar y sobre todo el agente del SARS. En el caso del hepatocarcinoma habría que determinar el genotipo de las cepas aisladas del propio tumor. Reitero nuevamente su admiración y mi felicitación.

Prof. Rey Calero

La Profesora Maroto nos trae un importante tema, como son diversos aspectos de la infección por VHC, y lo ha hecho con gran precisión y maestría, por lo que merece la más entusiástica felicitación.

Ha aborado un serio problema que afecta a más de 200 M de infectados, y, de acuerdo con las últimas reuniones de hepatólogos, 1 M están infestados en nuestro país y más de 5 M en Europa, sobre todo en las zonas del sur y del este.

Se incluye este virus monocatenario, +RNA, dentro de la gran familia de los *Flavivirus*, en la que se describen los géneros *Flavivirus*, que les da nombre por pertenecer el virus de la fiebre amarilla (flavus), junto con los 4 del dengue, encefalitis japónica, etc. El 2.º género descrito son los *pestivirus*, en los que destaca el BVD (Bovine Virus Diarrhea), que causa diarreas y neumonías en los terneros y ganado vacuno, temibles en estas explotaciones ganaderas. El 3.º género lo constituyen los *VHC (Hepacivirus)*, con características de ambos, pero con propiedades específicas, de las que nos ha ilustrado excelentemente la Prof. Maroto.

La principal vía de contagio en éstos son las transfusiones, los drogadictos UDVP; también se ha de considerar como una ETS, etc. Los UDVP, como suelen utilizar las drogas compartiendo jeringas y la promiscuidad, facilitan pues el intercambio de estos virus. Los tipos y subtipos con los que se infectan pueden ser varios, los más frecuentes desde el punto de vista epidemiológico, como nos ha indicado, son el 1b, 1a, 2a, 4a. Éste es muy frecuente en Egipto. El que una persona pueda ser infectada por distintos subtipos, aparte de las «cuasiespecies» que nos ha descrito, ya nos habla de las dificultades para conseguir el control inmunológico mediante vacunas.

El tratamiento con dosis ajustadas al peso con peginterferón y ribavirina han conseguido que se incremente la esperanza de vida en unos 4,7 años. Como indicaba que la vacuna está a largo plazo, quería comentarle las esperanzas puestas en los trabajos de Richardson y su equipo de oncología de Toronto, provocando la apoptosis de las células hepáticas infestadas con VHC. Utilizan ratones quimeras con hepatocitos análogos a los humanos, susceptibles de ser atacados por VHC que degradan las proteasas. Mediante adenovirus consiguen introducir en dichas células infestadas el precursor BID que presenta un área de identificación con la proteasa del VHC, produciendo la apop-

tosis en estas células infestadas y no en las normales, con lo que desciende la carga viral. Así, pues, esta terapia génica de los trabajos experimentales podrá abrir nuevas perspectivas a considerar en el futuro. Reitero, pues, mi felicitación cordial por tan importante y sugerente comunicación. Enhorabuena.

Profesor Espinós Pérez

La Prof. Maroto es siempre exhaustiva en sus comunicaciones; hoy lo ha sido también. Le felicito.

Es un tema de gran complejidad y ha quedado claro que se requiere mucho estudio e investigación hasta poder encontrar una solución adecuada. También ha quedado claro que en la actualidad el panorama de la hepatitis C es sombrío.

Es evidente que el subgrupo 1 B del virus es de peor pronóstico. También es cierto que en España este subgrupo es el más frecuente. La Prof. Maroto lo ha encontrado en el 57 % de una población de reclusos, entre los que la drogadicción es muy frecuente. ¿Qué papel puede tener este colectivo en el hecho de que entre la población general, no reclusos, el subgrupo 1B es también el más frecuente? No podemos olvidar que hay un número de enfermos con hepatitis C en los que no se evidencia ninguna fuente de contagio.

¿Qué subtipo es el que con mayor frecuencia produce manifestaciones extrahepáticas?

¿Es posible en la clínica la valoración de la Pk9 para conocer la posible respuesta al interferón?

Parece evidente que la gran variabilidad del virus de la hepatitis C hace imposible la obtención de vacunas; así lo ha señalado la Prof. Maroto. Quiero señalar que hace unas pocas semanas apareció en la prensa médica, prensa de divulgación, una noticia en la que se señalaba que un grupo de investigadores disponía ya de una vacunación eficaz que muy pronto estaría en el mercado. Parecía evidente que una industria farmacéutica apoyaba esta investigación. ¿Tiene Vd. conocimiento de esto? Según lo que acabamos de oír, no parece que sea cierta esta noticia. ¿No cree que esta noticia puede crear falsas esperanzas? ¿Cree Vd. que se debería ser más estrictos en publicar afirmaciones como éstas? ¿Cree Vd. que debería haber una «ética» de la información?

Le agradezco mucho esta interesante comunicación.

CONTESTACIÓN

Al Prof. Domínguez Carmona

El Prof. Domínguez Carmona tiene razón en sus divagaciones de la gran capacidad de diversificación del VHC. Pero no es lo mismo hablar de genotipos, de subtipos o de cuasiespecies. Es decir, que cuando yo decía que un virus parental puede dar lugar a una gran variabilidad en un mismo día y en un mismo individuo, me estoy refiriendo a cuasiespecies y, por supuesto, no hablo en absoluto de genotipos y de subtipos,. En uno de los momentos, ponía una diapositiva en la que decía que en el caso de las cuasiespecies había una homología de más del 98 %, es decir, que la diversidad entre ellas es muy pequeña, siendo la mayoría de esas partículas receptoras. El problema es poder estudiarlas correctamente y aun cuando hoy en día disponemos de técnicas muy sensibles como las de Heteroduplex Mobility Assay (HMA), las de SCP, las de restricción de fragmentos de las endonucleasas o las de secuenciación, realmente sigue siendo un tema complejo.

Tal como dice el Prof. Domínguez Carmona, su capacidad de mutación hace que crezcan de una forma importante, pero no exponencial (como haría, por ejemplo, *Escheridia coli*), ya que el hecho de la existencia o la carencia de determinados enzimas, hace que en alguna manera exista un determinado control. Aún así, en estos individuos existe una gran variabilidad de cuasiespecies.

Por último, quiero dar las gracias a todos los Señores Académicos que han intervenido, por sus cariñosas felicitaciones, así como por sus aportaciones que, como siempre, han sido muy valiosas.

Al Prof. Rey Calero

El Prof. Rey Calero, además de hacer un magnífico repaso a todo el tema del VHC sobre el que nosotros no hemos querido entrar por su magnitud, nos habla de los principales genotipos. Indudablemente, como él señala, el más frecuente en nuestro país es el 1b, pero tenemos otra serie de ellos como el 4a, el 2, 3 e incluso mixtos y dependientes además del grupo de riesgo, ya que en el caso de los drogadictos es muy frecuente el 1a.

Igualmente nos habla de un experimento en Toronto provocando

apoptosis en las células infectadas. Algo parecido hicimos hace unos años en nuestro Departamento en leucocitos de individuos VIH e individuos controles, mediante procesos de estimulación con fitohemaglutinina y concavalina para estudiar, por tinción, fenómenos de apoptosis. Los resultados obtenidos en ambos grupos eran totalmente diferentes, lo cual nos hizo pensar en su posible papel en determinados procesos infecciosos. Es probable que también lo juegue en el VHC, pero todavía necesita un mayor estudio en profundidad.

Debido a todo ello, y ya que los tratamientos actuales con Interferón pegilado y Ribavirina no son efectivos en todos los casos, indudablemente el camino de la apoptosis es una vía fisiológica de actuación, pero más difícil desde el punto de vista terapéutico. A mí personalmente me gustaría que me siguieran buscando otras vías más directas, como ocurrió en el tema del VIH.

Al Prof. Espinós Pérez

El Prof. Espinós, como siempre, ha planteado una serie de preguntas muy inteligentes. En primer lugar, el papel jugado por los drogadictos. Indudablemente, la forma de transmisión parenteral, como ocurre con las transfusiones, sigue siendo, al igual que en el VIH, una forma clara de transmisión y de difusión. El problema principal de la infección VHC, como señala muy bien el Prof. Espinós, es que existe un amplio colectivo de enfermos con hepatitis C en los que no se evidencia cuál fue la fuente de contagio. No debemos olvidar, por otra parte, su posible transmisión sexual, aunque ésta sea mucho menor que en el caso del virus B o del VIH.

El estudio del papel de PKR en la posible respuesta al Interferón, así como el de la región ISDR (Región Determinante de la Sensibilidad al Interferón) es una vía de investigación abierta con muchas posibilidades tal y como ya he reseñado, pero que, en este momento, no forma parte de una rutina diaria que se pueda utilizar en la clínica.

Por último, en relación a las vacunas, veo difícil, a pesar de las numerosas líneas abiertas, una viabilidad a corto plazo por los múltiples problemas que conlleva el VHC (imposibilidad de cultivo, gran variabilidad genética, ausencia de buenos animales de experimentación, etc.). Por eso creo que las múltiples noticias que nos llegan a través de los medios de comunicación pueden crear, como

dice el Prof. Espinós, falsas esperanzas. Estoy de acuerdo en que se debería ser más estricto y mantener un mayor rigor científico en todo tipo de información al público en general.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Hemos tenido hoy una gran sesión de actualización microbiológica. Felicito a los dos ponentes. Son unos aspectos que en la clínica nos interesan muchísimo a los que hemos ejercido y ejercemos la medicina, las infecciones urinarias son de una reiteración pero poco a poco se va aclarando el por qué se reiteran, como muy bien nos ha demostrado el Prof. Piédrola. El múltiple campo de las adeninas, su relación con las mutaciones que hay a nivel del E. coli, de enterococos, de proteus, que son de las más frecuentes infecciones urinarias que tenemos que tratar los clínicos en su reiteración, abren nuevas perspectivas, que al final de ellas el tratamiento quimioantibiótico tendrá, sin duda, refuerzo importante.

Debo aprovechar este momento para agradecer a estos especialistas microbiólogos, que dejáis, como se decía clásicamente, vuestras pestañas en el trabajo asiduo de ver cómo se hace más importante la lucha antimicrobiana; vuestro esfuerzo, vuestro trabajo, vuestro interés y lo mucho que aclaráis en los aspectos de la patología general y de la terapéutica en las infecciones humanas.

La Dra. Maroto se dedica al estudio de la gran variabilidad de los virus, que explica la distinta gravedad en la clínica de las infecciones virales, que son mu distintas de una a otra persona. Los clínicos lo achacamos al condicionamiento patogénico de las personas, la disminución de las respuestas, las enfermedades asociadas a la diabetes... En esa variabilidad de los virus sin duda existe un alto porcentaje de motivos de la gravedad diversa de las infecciones virales. En eso radica, creo yo, el misterio de esa distinta variabilidad; una gripe es muy distinta de un enfermo a otro, de un hermano a otro hermano sometidos al mismo momento del contagio. Posiblemente, por esta vía del estudio de la variabilidad en los aspectos más importantes de la profunda microbiología y de la virología podrán entreabrirse muchas de las incógnitas o de los caminos futuros. Variabilidad de los virus que desde luego explican, en el virus de la hepatitis C, las alteraciones muy diversas de uno a otro enfermo en los problemas extrahepáticos, en la infección, que nos

sorprende a los clínicos, cual es esa variabilidad clínica; ahí está la respuesta, la variabilidad que vosotros estudiáis en el profundo mundo de los virus, es también cuando infectan al hombre, responsable por mecanismos no conocidos todavía bien, de la distinta gravedad de las infecciones por el virus C.

Y no digamos ya el misterio en el por qué el virus VHC con su variabilidad genética, por qué mecanismos se genera en algunos una cronicidad tremenda; otros una remisión menos frecuente de la que deseamos los clínicos, y en otros, el hepatocarcinoma. El problema de la génesis de hepatocarcinoma infectado por el virus C sigue siendo un gran problema. Os estáis acercando mucho al por qué de esas cosas; son problemas graves que con vuestro estudio, con vuestra dedicación, con vuestro esfuerzo se están aclarando. Gracias a vosotros, gracias al mundo de la microbiología, gracias a los microbiólogos como entonces y ahora se siguen aclarando problemas de la patología humana.

Se levanta la sesión.

XII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 6 DE MAYO DE 2003

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

AYER Y HOY DEL SÍNDROME DE TURNER

***PAST AND PRESENT PERSPECTIVES
OF TURNER SYNDROME***

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

Académico de Número

SUEÑO, APRENDIZAJE Y MEMORIA

SLEEP, LEARNING AND MEMORY

Por el Excmo. Sr. D. FERNANDO REINOSO SUÁREZ

Académico de Número

AYER Y HOY DEL SÍNDROME DE TURNER

PAST AND PRESENT PERSPECTIVES OF TURNER SYNDROME

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

Académico de Número

Resumen

Se describen aspectos actuales del síndrome de Turner. Clínicamente se destaca la importancia de casos fenotípicamente normales de difícil diagnóstico. De otra parte, a los criterios clínicos clásicos se añade, en la actualidad, la posibilidad de un diagnóstico precoz gracias a la ecografía prenatal. Pese a ello, el diagnóstico de síndrome de Turner se hace muchas veces muy tardíamente. Terapéuticamente, junto a las actuaciones tradicionales se cuenta hoy con la posibilidad de fertilizaciones *in vitro*, conseguidas ya con éxito, así como con la terapia con GH. En la serie presentada, la talla final con este tratamiento mejoró 6 cm, prácticamente, sobre la talla esperada, creyéndose que, en el futuro, con mayores conocimientos sobre el tema, los resultados serán aún más positivos.

Abstract

Herein current aspects of the Turner Syndrome are described. Clinically, it is emphasized the importance of phenotypically normal cases that pose difficult diagnosis problems. On the other side, in addition to the classical clinical criteria, early diagnosis is possible through prenatal sonography. However, many times the diagnosis is made late in excess. Therapeutically, together with former intervention strategies, «in vitro» fertilization is feasible today and has been successfully achieved, as well as GH therapy; in the presented series final height improved 6 cms over expected height, and in the foreseeable future, with increasing knowledge advances further benefits can be anticipated.

I. En el día de hoy sabemos que el síndrome de Turner es debido a la ausencia de todo un cromosoma X o de un fragmento mayor o menor del mismo.

En el pasado, establecíamos el diagnóstico del síndrome de Turner sobre la base de un simple soporte clínico. Los criterios eran muy frágiles, y sobre todo muy estrechos, a tenor de nuestros actuales conocimientos. Se fundamentaba en un trípede sintomático: el de su dismorfia, el de su talla corta y el de su infantilismo.

La dismorfia parecía esencial, y se prestaba a pocos equívocos: la facies, el cuello, la nuca, el tórax, los brazos, las manos y dedos, etc., creíamos que permitían identificar todos los casos. Nada estaba más lejos de la realidad. De una parte, hoy sabemos que el fenotipo Turner se halla ausente en algunas observaciones; es lo que pudimos comprobar en 3 de nuestros 24 casos. Mas a este respecto del diagnóstico hay otro hecho interesante. Pese a ser muy características sus manifestaciones morfológicas, y patentes desde el nacimiento, añadidas a veces con los clásicos linfedemas del llamado síndrome de Bonnevie-Ullrich, el diagnóstico se hace muchas veces muy tardíamente. En nuestra serie, más de la mitad de los casos fueron diagnosticados adecuadamente tan sólo después de los ocho años de edad. Esto indica, evidentemente, una gran incultura médica al respecto, y de la cual, no sé si debe consolarnos el que en otros países, como Bélgica y Alemania, pase lo mismo; en el primero, Massa y col. (1) manifiestan que el 15 % de las enfermas se diagnostican antes del año de edad, un 8 % más hasta los cuatro años, y el resto en la infancia tardía, incluso en la adolescencia; Partach y col. (2) en Alemania, por su parte, indican que sucede algo parecido, o peor aún, pues hasta una de sus observaciones había sido operada de una coartación aórtica, complicación que sabemos es frecuente en el síndrome de Turner, y que, no obstante, no fue diagnosticada hasta bastante después.

Pero si hacemos mención de los retrasos en el diagnóstico no es por motivos puramente académicos; su importancia es considerable a la hora actual, en que disponemos de interesantes acciones terapéuticas cuya aplicación precoz tiene gran trascendencia, aparte de que podrían anticiparse también actuaciones de tratamiento sobre toda una amplia, y a veces peligrosa, patología (cardíaca, renal, tiroidea, auditiva, etc.) que, por frecuentemente asociada al síndrome de Turner, sería sospechada y reconocida tempranamente (3).

De todos modos, cabe la posibilidad de hacer un diagnóstico

prenatal en no pocos casos. La ecografía aplicada prenatalmente puede informarnos de la existencia de linfangiomas quísticos en el cuello; la gran mayoría de ellos serán síndromes de Turner. Igualmente es muy informativo el pliegue nucal (distancia entre la piel nucal y la parte posterior de la columna); medido al final del tercer mes de la gestación, no debe superar los 3 mm. Si lo hace, deberá sospecharse, ya una trisomía, ya un síndrome de Turner. En cualquiera de los casos, la confirmación del diagnóstico se impone mediante la práctica de un cariotipo en las células del líquido amniótico obtenido por amniocentesis.

Estos hallazgos prenatales y los postnatales antes referidos, por otra parte, nos deben permitir, o nos deberían permitir, hacer el diagnóstico de todos los casos afectos de dismorfia. Sin embargo, y como hemos visto, hay un pequeño porcentaje de casos que no son dismórficos, y tampoco monosómicos, pero que si tienen una pérdida de material cromosómico X. En estos casos, llegamos al diagnóstico a través de la consideración del retraso en talla. Es curioso que, en nuestra experiencia, tan sólo en 8 casos las familias consultaron por la dismorfia de sus hijas (genuina dismorfia o linfedema), mientras que en 15 pacientes a los padres solamente les alertó el retraso en el crecimiento de sus hijas.

En el momento presente, y con una mayor cultura médica, parece que el problema del diagnóstico precoz debiera estar centrado exclusivamente en las niñas no dismórficas.

Desde luego que la corta talla fue uno de los rasgos clínicos turnerianos conocidos desde el principio. Afecta, según Saenger (4), y ésta es también nuestra experiencia, al 100 por 100 de los casos; es el rasgo más fidedigno del síndrome de Turner. Hoy, sabemos muy bien como se comportan estas niñas. Al nacer, su talla es ya más corta de lo normal; entre 2,5 y 3 cm menos. Igualmente el peso es algo inferior al de la media normal. Desde estos momentos el crecimiento va en desaceleración, acumulándose progresivamente una deficiencia con respecto a las niñas normales. Al final, la diferencia entre las niñas normales y las niñas Turner es de alrededor de 20 cm. La talla final de las niñas Turner en el estudio multicéntrico español de 1994 (5) fue de 142,9 cm, dato idéntico al que fuera publicado por Lyon (6) en sus conocidas gráficas sobre el crecimiento de las niñas con síndrome de Turner. Debe señalarse, no obstante, que la talla final de cada niña se halla influenciada por su talla genética. Por ello, las niñas escandinavas o del N. de Europa, alcan-

zan unas tallas sensiblemente superiores a las de las Turner meridionales; pero esto pasa, igualmente, con las niñas normales. Lo que sí es claro es que desde la vida intrauterina a la adulta, el retraso en talla es permanente y continuo. Por la acción acumulativa del mismo, es por lo que las desviaciones de la normalidad son cada vez mayores. En las gráficas de Tanner, superpuestas con las de Lyon, se ven nítidamente estas diferencias que, como indicamos, son progresivas. En nuestra experiencia, observamos que se pasaba de -2.02 UDE para las gráficas de Tanner a los 4 años, a -3.41 UDE a partir de los doce años, siendo nuestros datos parecidos a los publicados por Sawendhal y Davenport (7).

Si, como hemos dicho, el retraso en la talla es constante en el síndrome de Turner, pero hay casos sin dismorfia (se reclutan entre los que únicamente presentan una pérdida parcial de material cromosómico X, que no de todo un cromosoma), el problema del diagnóstico afectaría muy principalmente a este grupo de niñas. A tenor de estos hechos, parece que si no se quisiera perder diagnósticos, la práctica de una cariotipo sería obligada en toda niña que tuviera un importante retraso de crecimiento, y que no pudiera ser explicado claramente de otro modo. En principio, los síndromes de Turner sin dismorfia deberían reclutarse entre las niñas bajas, en general muy por debajo del p3, normales por lo demás, es decir, sin presentar ningún rasgo de dismorfia ni ninguna de las características complicaciones del síndrome de Turner: válvula aórtica bicúspide, coartación aórtica, riñón en herradura, etc., puesto que de ser este el caso, el diagnóstico del síndrome de Turner sería muy sugerente. El problema es que para que ninguna enferma escapara al diagnóstico habría que hacer un cariotipo a algo así como al 5 % de toda la población femenina (todas las mujeres que estuvieran por debajo del p5), lo que supone un costo económico muy considerable. Una actuación de esta naturaleza supondría la realización en España de unos 7.500 cariotipos anuales por solo este motivo (se calcula el costo de un cariotipo en alrededor de 200 euros). Recientemente, y a pesar de todo, Savendhal y col. (7) propusieron que los cariotipos se efectuaran no sólo en aquellas niñas que se encontraran bajo un p5, sino también en aquellas que presentaran aisladamente, o asociadas, algunas características especiales (ver tabla 1). Evidentemente, y siguiendo estas directrices, el campo resulta enormemente amplio, y oneroso en consecuencia. Es por ello por lo que se ha tratado de delimitar algo el campo del grupo que debiera ser

TABLA 1

CRITERIOS PARA SOLICITAR CARIOTIPO

1. Cualquier niña con uno o más de los siguientes síntomas:
 - Talla por debajo del p5
 - Pterigium colli
 - Linfedema periférico
 - Coartación aórtica
 - Pubertad diferida

2. Cualquier niña con dos o más de los síntomas siguientes:
 - Displasia de uñas
 - Paladar arqueado
 - 4.º metacarpiano corto
 - Estrabismo

SÄVENDAHL, L.; DAVENPORT, M. L., *J Pediatr* 137, 455, 2000.

investigado. En este sentido, Eggert y col. (8) sugirieron que puesto que las niñas afectas de síndrome de Turner tienen, proporcionalmente, un perímetro craneal superior al de otras niñas bajas (formas bajas variantes de la normalidad, familiares, disfunciones neurosecretoras, etc.), podrían seleccionarse los casos entre las que además de ostentar una baja talla poseyeran esta segunda circunstancia. Desgraciadamente, cuando se han hecho estudios comparativos entre los diversos grupos de niñas bajas y las Turner, se ha visto que hay demasiados solapamientos en los resultados obtenidos para que pueda ser aceptado este criterio como válido.

Finalmente, en cuanto a los rasgos clásicos, estaba el tema del infantilismo. Cuando se inició el conocimiento del síndrome de Turner, se señalaba que una de las características del mismo era la aplasia gonadal; el tejido gonadal noble no existía, y en su lugar aparecían unas cintillas de tejido conjuntivo carentes de células germinales. Se habló entonces de «agenesia» y de «disgenesia» gonadal. La realidad es que el primero de estos términos no parece el más adecuado. Los ovarios de los síndromes de Turner han existido y contenido folículos, como hemos tenido ocasión de observar en alguna recién nacida. Lo que ocurre es que la involución ovárica, que comienza ya en la vida fetal, y que de los 7.000.000 oocitos que tiene el feto normal, y que al nacer han disminuido a 2.000.000, y al llegar a la menarquía a 400.000, se mantiene a este ritmo gra-

cias a la presencia de dos cromosomas X. En ausencia o precariedad de uno de ellos la involución se acelera, tiene lugar una abiotrofia.

Parece lógico pensar, según esto, que para el normal desarrollo del ovario fueran necesarios alguno o algunos genes que se hallarían sobre el cromosoma X y que escaparían a la inactivación de éste. En caso de monosomía o deleción, tales genes se hallarían tan sólo presentes en el otro cromosoma X, y serían haploinsuficientes. Los genes que regularían el desarrollo ovárico se hallarían ubicados en las llamadas regiones «críticas», situadas en el brazo corto, distales a Xp11, y en los brazos largos en Xq13-25 y Xq26-28.

Un punto interesante en relación con el infantilismo es el de la infertilidad de estas pacientes. Desde luego, ésta no es constante. Hay un pequeño porcentaje de casos en los que la pubertad se produce espontáneamente; hasta en un 16 % de los casos en algunas series (Birkebaek y col.) (9). En nuestra experiencia, tan sólo en un caso entre las 18 que habían llegado a la vida adulta. Algunas de las mujeres que alcanzaron la pubertad han sido capaces de concebir y tener hijos. En el grupo estudiado por Birkebaek y col. sobre más de 400 casos, tuvieron hijos un 8 % del total, si bien 2 de las mujeres fueron fertilizadas empleando óvulos de donantes.

Debe tenerse presente que los casos de fertilización pueden ser obtenidos no sólo en quienes hayan tenido pubertad espontánea, sino igualmente en casos de mujeres amenorréicas en quienes se hizo implantación de embriones, habiendo utilizado ya óvulos procedentes de hermanas de la paciente, o bien anónimos. Y es que el útero de las Turner amenorréicas puede ser adecuadamente preparado mediante el suministro de estrógenos, dado que el endometrio responde a estos últimos en manera satisfactoria, aunque no en todos los casos (más o menos en el 50 %, según Paterson y col.) (10).

Otro es el problema del final de los embarazos espontáneos. En un porcentaje alto, y variable según las diversas series, pero que viene a ser de alrededor de un 30 % en la mayoría de ellas, los niños nacen con diversas anomalías, de las que los síndromes de Down y las aneuploidías sexuales son las más comunes entre otras varias malformaciones congénitas.

II. Un aspecto de interés, y sobre el que todavía queda mucho por conocer, es el del diagnóstico cromosómico y sus implicaciones, dependientes éstas de los hallazgos que se observen. Lo caracterís-

tico, y conocido ya desde, más o menos, 50 años, es que en este síndrome existe la pérdida de un cromosoma sexual; en ocasiones, sin embargo, la pérdida se refiere a una parte más o menos importante del mismo. En nuestras observaciones, los cariotipos que hemos encontrado son los presentados en la tabla 2. Aparece claro que los casos 45X son los dominantes con mucho (58,3 %); así es la experiencia, también, de todo el mundo. En los demás existió pérdida de material X en más o menos abundancia, y en 3 de los casos reconocimos la existencia de mosaicismos. Seguramente estos datos que presento no se corresponden con absoluta fidelidad a la estricta realidad.

Hoy sabemos que en el conjunto de la población, la pérdida de material X es sumamente frecuente. Algunos autores, como Saenger (11), cifran esta contingencia en el 3 % de todos los embarazos femeninos; lo que sucede es que tan sólo el 1 % de los embriones así afectados sobreviven (3). De ello resulta que la frecuencia del síndrome de Turner en la vida postnatal afecta únicamente a 1/1.500 a 1/2.500 mujeres vivas, y que esta alteración cromosómica sea la causa más frecuente de abortos espontáneos; se estima que entre el 15 % y el 18 % de todos los abortos espontáneos reconoce este origen.

Parece pregunta obligada la de porqué o cuáles de entre los deficitarios en material X sobreviven. Posiblemente, la presencia, siquiera sea de forma casi testimonial, de dos cromosomas sexuales sea necesaria para la supervivencia. En el caso que nos ocupa, la presencia de dos cromosomas X. Si así fueran las cosas, habríamos de aceptar que todos los casos de síndrome de Turner que vemos en la vida postnatal serían mosaicos en una mayor o menor proporción. Cuando los exámenes cromosómicos se llevan a cabo con técnicas rutinarias, la frecuencia de mosaicismos es, como fue en nuestro caso, de un 12 % aproximadamente; incluso menor en otras series (6 % en la de Ferrández) (12). Sin embargo, cuando los estudios se realizan de modo muy cuidadoso y aplicando técnicas muy sofisticadas (hibridación *in situ* con fluorescencia, PCR, etc.), el número de casos se eleva enormemente, hasta más de un 70 % (11). Estos resultados parecen corroborar lo arriba expresado, en el sentido de que para la supervivencia y para una adecuada función placentaria sea indispensable la existencia de una línea celular normal en una proporción mayor o menor.

Mosaicismos también, parecen evidentes en todos los casos de

TABLA 2

CARIOTIPOS OBSERVADOS
(n = 24)

45,X	14
46,XX,i(Xq)	5
46,XX,del(Xp)	2
45,X/46XX,i(Xq)	1
46,XX/46,XX,i(Xq)	1
45,X/46XX	1

TABLA 3

ASOCIACIONES OBSERVADAS
(n = 24)

Tiroiditis	8
Otitis repetidas	6
Válvula aórtica bicúspide	3
Anomalías de la rotación renal	3
Riñón en herradura	2
Duplicación renal	1
Coartación aórtica	1
Glaucoma	1
Tortícolis	1
S. de Klippel-Trenaunay	1
S. de Dandy-Walker	1
Sin anomalías asociadas	9

Turner en los que espontáneamente ha tenido lugar la aparición de la pubertad, y más aún en los casos de fertilidad natural. En todos estos creemos indispensable la existencia de alguna línea 46XX, y sobre todo, parece también necesario que la línea 45X no sea muy abundante; en opinión de Birkebaek y col. (3), deben existir menos de un 10 % de células 45X para que pueda existir fertilidad. Una de las razones para ello ya fue expresada anteriormente: se precisan genes de las «regiones críticas» del X, en forma diploide, para el mantenimiento de los oocitos en el ovario hasta allá de la pubertad.

Dentro de los mosaicismos, requieren una particular atención los casos en los que exista un cromosoma Y, particularmente aquellos 45X/46XY. En ellos es frecuente el desarrollo de un gonadoblastoma, razón por la que se aconseja que tales casos deban ser gonadectomizados. Por temor a estos riesgos (los gonadoblastomas se malignizan frecuentemente), en algún momento ha podido ser recomendada la aplicación de técnicas refinadas, a todos los casos de síndrome de Turner, destinadas a la búsqueda de un cromosoma Y, por si pudiera existir un mosaico respecto de éste. La realidad ha sido que la frecuencia de positivos observada ha sido muy baja, y más aún, que cuando el mosaicismo es tan escaso como que para descubrirlo sea necesaria la aplicación de técnicas tan sofisticadas, la frecuencia de gonadoblastomas en tales casos, ha sido despreciable. No obstante, hay autores como Cervantes y col. (13), que re-

comiendan hacer los estudios cromosómicos con PCR, PRINS y FISH, a fin de identificar, hasta donde sea posible, si hay restos de Y, o no.

III. Respecto de la terapéutica, también se han producido en los últimos años avances interesantes.

En cuanto a la dismorfia, poco o nada han cambiado las cosas. Debe reconocerse que lo cierto es que no es tan deformante como para que requiera de manera ineludible actuaciones cosméticas. Sí que las requiere en algunos casos el pterigium, pues puede llegar a ser enorme; en tales pacientes se hace necesaria su escisión quirúrgica, prestando siempre gran atención, como en cualquier otra intervención quirúrgica, a las posibles cicatrices queloideas que pueden producirse, dado lo proclives que a las mismas son estas enfermas.

En situación parecida estamos también ante la común patología asociada que hemos observado en nuestras pacientes. Aunque no insistiremos en ello, sí que se tendrá siempre en cuenta la necesidad de tratar adecuadamente toda esta patología.

Tampoco incidiremos sobre el problema del infantilismo. La oportuna aplicación de una terapia estrogénica sustitutiva permite obtener un desarrollo sexual adecuado, como igualmente la producción de ciclos menstruales. En cuanto al momento de inicio de la terapia sustitutiva, en el pasado teníamos la tendencia a aplicarla tardíamente, en torno a los 14 ó 15 años, y hasta los 16, a fin de no comprometer en nada el crecimiento, dado que, poco o mucho, los estrógenos, acelerando el desarrollo óseo, podían promover un cierre adelantado de las líneas de crecimiento, con lo que éste quedaría detenido antes de lo que espontáneamente hubiera tenido lugar. En la actualidad, y existiendo una terapéutica eficaz sobre el retraso del crecimiento, el tratamiento con estrógenos lo hemos adelantado hasta los 12 años, al objeto de no diferir el inicio de la pubertad.

Algo que sí ha cambiado, y radicalmente, es la cuestión del retraso en talla. Ya hemos referido anteriormente, como la talla media definitiva de las niñas españolas con síndrome de Turner era de 142,9 cm, cuando las únicas actuaciones terapéuticas que se aplicaban eran los anabolizantes del tipo de la oxandrolona. Éstos, y los estrógenos suministrados en la fase arriba indicada, no nos proporcionan resultados dignos de mención. El crecimiento, prácticamente, no se modificaba.

Fue a partir del momento en que se dispuso con una cierta liberalidad de hormona de crecimiento como agente terapéutico, cuando las cosas cambiaron. Comenzó a emplearse en el síndrome de Turner, aun cuando no sabemos muy bien por qué, pues en la mayoría de los estudios publicados sobre la secreción de GH en las niñas con síndrome de Turner, los resultados comunicados refieren una secreción normal de aquélla [Wit y col. (14); Saenger (11), etc.]; ésta es también nuestra experiencia en unos pocos casos, en los que por simple curiosidad, exploramos con diversos estímulos (ejercicio principalmente) la secreción de GH. En la literatura, apenas existen otros trabajos que los de Pirazzoli y col. (15) en los que se refiere que la secreción espontánea nocturna es baja, y que con diversos estímulos, la respuesta que obtienen es inferior a 8 $\mu\text{g/l}$. La idea general es la de que el retraso del crecimiento en el síndrome de Turner es debido a un problema génico. Incluso se ha llegado ya a identificar el gen ausente, el llamado SHOX (short stature homeobox-containing), ubicado en la región pseudoautosómica de los brazos cortos del cromosoma X, y que tiene su normal correspondencia en el cromosoma Y. La pérdida de aquella región en uno de los cromosomas X en el caso del síndrome de Turner, crearía una situación de haploinsuficiencia que sería la responsable del retraso en el crecimiento, así como de otras varias anomalías esqueléticas (acortamiento del 4.º metacarpiano, cúbito valgo, etc.) (16).

No obstante todo esto, desde hace ya unos cuantos años, y de una manera empírica, se comenzó a utilizar la GH en el síndrome de Turner; los resultados se han mostrado como muy satisfactorios en todas las observaciones realizadas.

Nosotros comenzamos a utilizarla en cuanto se pudo disponer del producto con libertad de aplicación en los síndromes de Turner. Lo suministramos a la dosis de 1 u/Kg/semana, siguiendo la misma pauta que aplicamos en los casos de deficiencia hipotálamo-hipofisaria de GH, esto es, inyectando la dosis alícuota diaria, por la noche, por vía subcutánea. Los períodos de tiempo durante los que hemos tratado a nuestras enfermas han sido variables. La media ha sido de 3 años y 4 meses, oscilando sus límites entre 1 año y 6 años y medio. La terapia se inició, por término medio, a los 13 años, y se interrumpió al alcanzarse una edad ósea adulta, esto es, cuando observamos que las líneas de crecimiento se habían cerrado. Los resultados que se han seguido nos han parecido

muy satisfactorios; considerando, además, que podrán ser mejorados cuando la terapéutica se inicie más precozmente y por períodos de tiempo más prolongados.

En nuestras enfermas, somos conscientes de que los casos que hemos analizado comenzaron su tratamiento tardíamente; ello fue debido a la posibilidad de aplicarlo sólo cuando la Seguridad Social autorizó a utilizar la hormona liberalmente en el síndrome de Turner.

Hemos seguido un grupo de 15 enfermas, en total, hasta que alcanzaron su talla adulta definitiva. Los resultados están recogidos en la tabla 4. Como puede advertirse, la talla media conseguida es de 148,2 cm, lo que supone 5,3 cm

más de la talla media esperada, a tenor de los datos más arriba referidos sobre el estudio colaborativo español. A ello, además, querríamos hacer algunas precisiones que aumentarían el optimismo. Una de nuestras pacientes, que no hemos querido excluir de la serie, pero que deforma y sesga un poco la talla media final, alcanzó una talla adulta definitiva de 137,5 cm, talla realmente muy baja, pero que se produjo en una niña cuya talla genética era ciertamente anómala, 145 cm. De otra parte, otra de nuestras enfermas inició el tratamiento a los 18 años, y se inició porque sus líneas epifisarias de crecimiento aún no estaban totalmente cerradas; pese a su enormemente tardía administración de GH, su respuesta fue positiva, si bien no superó los 142,5 cm, esto es, la media de los casos no tratados. Finalmente, también queremos hacer mención de otra circunstancia, sin duda casual. Nos referimos a que la talla genética de nuestro grupo fue bastante inferior a la media normal para la población femenina normal española. Esta última es de 162 cm, siendo así que la talla genética media de nuestras observaciones fue de 158,2 cm.

Si se tienen en cuenta estas tres circunstancias, pensamos que el resultado podría haber sido bastante más satisfactorio. No obstante, y con el fin de precisar mejor las cosas, hemos valorado en

TABLA 4

TALLAS FINALES

154,4
145,5
151,6
150,3
148,3
145,0
141,5
154,5
137,5
153,2
149,0
149,6
146,0
142,5
154,0

n: 15 media: $148,2 \pm 5,1$

TABLA 5

UDE RESPECTO A LAS TABLAS DE TANNER AL INICIO
Y FIN DEL TRATAMIENTO. SALDO OBTENIDO (UDE)

<i>Inicio</i>	<i>Final</i>	<i>Saldo</i>
- 2,83	- 1,20	+ 1,63
- 3,05	- 2,78	+ 0,27
- 2,88	- 1,60	+ 1,28
- 1,64	- 1,22	+ 0,42
- 3,35	- 2,28	+ 1,07
- 4,43	- 2,83	+ 1,60
- 4,90	- 3,45	+ 1,45
- 1,95	- 1,13	+ 0,82
- 4,39	- 4,11	+ 0,28
- 1,61	- 1,30	+ 0,31
- 3,46	- 2,40	+ 1,06
- 2,72	- 1,90	+ 0,82
- 3,34	- 2,26	+ 1,08
- 3,62	- 3,00	+ 0,62
- 3,75	- 1,45	+ 2,30

n: 15 media del saldo: $1,0 \pm 0,59$

TABLA 6

UDE RESPECTO DE LA TALLA GENÉTICA AL INICIO
Y AL FINAL DE LA TERAPÉUTICA. SALDO OBTENIDO (UDE)

<i>Inicio</i>	<i>Final</i>	<i>Saldo</i>
- 2,77	- 1,10	+ 1,67
- 2,85	- 2,58	+ 0,27
- 2,70	- 1,40	+ 1,30
- 2,19	- 1,75	+ 0,44
- 2,74	- 1,57	+ 1,17
- 2,65	- 1,05	+ 1,60
- 3,12	- 1,67	+ 1,45
- 2,08	- 1,50	+ 0,58
- 1,53	- 1,25	+ 0,28
- 1,08	- 0,90	+ 0,18
- 3,21	- 1,90	+ 1,31
- 1,80	- 1,00	+ 0,80
- 2,14	- 1,40	+ 0,74
- 3,00	- 2,20	+ 0,80
- 3,75	- 1,23	+ 2,52

n: 15 Saldo medio: $1,00 \pm 0,64$

unidades de desviación estándar (UDE) la situación de cada caso concreto.

Todas nuestras pacientes, al inicio del tratamiento, se hallaban en unas tallas inferiores a las estándar de Tanner (tabla 5). Al fin del mismo, todos los casos habían mejorado su situación, con una media de $1,0 \pm 0,59$ UDE. Cuando estudiamos, igualmente, el comportamiento respecto de la talla genética, todos los casos mejoraron también: al final, la diferencia respecto de la talla genética se había reducido de media en $0,83 \pm 0,48$ UDE (tabla 6).

Finalmente, y aun cuando somos conscientes de sus limitaciones, estudiamos la respuesta obtenida, considerando la predicción de talla adulta que establecimos al iniciar el tratamiento siguiendo el método de Bayley y Pinneau. En su conjunto obtuvimos una mejoría de $3,8 \text{ cm} \pm 4,5$ en la talla final lograda.

En resumen, creemos que la terapia con GH permite obtener respuestas muy favorables, y que lo serán más aún cuando conozcamos con más precisión cuando deben comenzarse los tratamientos, a qué dosis y con qué pautas. Porque todavía existen muchas dudas y controversias al respecto.

Por lo regular, la mayoría de los autores siguen pautas similares, en cuanto a dosis, a las que hemos aplicado, señalándose, no obstante, que seguramente, con dosis más elevadas se lograrían respuestas más eficaces (Saenger). Respecto al comienzo del tratamiento, es claro que su empleo precoz mejorará las respuestas; en general se recomienda iniciarlo en cuanto la talla de la enferma se encuentre en, o por debajo, de un p5. Éste ha sido nuestro proceder en los últimos casos que hemos tenido la oportunidad de tratar, y que no han sido incluidos en los datos que presentamos porque se hallan todavía muy lejos de su talla final. En lo que concierne a la forma del suministro de la medicación, hay quien reparte la dosis semanal de GH por vía subcutánea, a días alternos, y quién lo hace a diario; esta última ha sido la norma que hemos seguido, manteniendo el mismo criterio que en el enanismo hipofisario, en el que, obrando así, hemos logrado mejores respuestas. En fin, hay quien todavía considera interesante el momento del día en que proporcionar la medicación, especialmente cuando se hace conjuntamente con la terapéutica sustitutiva con estrógenos; recomiendan en estos casos, que ambos medicamentos sean proporcionados en las horas de la tarde a causa de la modulación que se ejerce sobre los niveles de insulina, glucagón y relación IFG-I/IGFBP-3 (Naeraa y col.).

Querriamos, en última instancia, poner de relieve el enorme cambio producido en la evolución de los síndromes de Turner. De no saber qué hacer con la dismorfia, con el retraso en el crecimiento y con el infantilismo, hemos pasado a mejorar sustancialmente la talla, a mantener una buena imagen corporal desde el punto de vista sexual, y a lograr fecundaciones con óvulos fecundados o embriones, a sabiendas de que también pueden producirse aquéllas de modo espontáneo, si bien los riesgos para la descendencia en este último caso, como hemos indicado, no son pequeños. Estos progresos, tan importantes, han sido causa fundamental para que en los años más recientes, cuando a unos padres se les informa prenatalmente de que van a tener una hija afecta de un síndrome de Turner y de cuáles son sus posibilidades futuras, las solicitudes de proceder a un aborto preventivo, hayan disminuido en grado considerable (Liden y col., Verp y col., Donnai).

BIBLIOGRAFÍA

1. MASSA, C. G.; VANDERSCHUEREN-LODEWEYCKX, M.: «Age and height at diagnosis in Turner syndrome: influence of parental height». *Pediatrics* 1991; 88: 1148-52.
2. PARTSCH, C. J.; RAFFENBERG, V.; SIPPEL, W. G.: «Screening for Turner syndrome by chromosome analysis Of all girls with short stature». *J Pediatr* 2000; 140: 140-1.
3. ROSENFELD, R. G.: «Turner' syndrome: A growing concern». *J Pediatr* 2000; 137: 443-44.
4. SAENGER, P.: «Growth promoting strategies in Turner' syndrome». *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4345.
5. FERNÁNDEZ, A.; LABARTA, J. I.; MAYAYO, E. et al.: «Talla final en el síndrome de Turner». *Endocrinología* 1994; 41 (sup 2): 26-30.
6. LYON, A.J.; PREECE, M.A.; GRANT, D.B.: «Growth curve for girls with Turner' syndrome». *Arch Dis Childhood* 1985; 60: 932-35.
7. SÄVENDAHL, L.; DAVENPORT, T.M.L.: «Delayed diagnosis of Turner' syndrome». *J Pediatr* 2000; 137:445.
8. EGGERT, P.; PAUKAU, R.; OLDIS, H.D.: «How necessary is a chomosomal analysis in growth girls». *Clin Genet* 1990; 37: 351-4.
9. BIRKEBAEK, N.H.; CRÜGER, D.; HANSEN, J. et al.: «Fertility and pregnancy outcome in Danish women with Turner syndrome». *Clin Genet* 2002; 61: 35-9.
10. PATERSON, W. F.; HOLLMAN, A. S.; DONALDSON, M. D.: «Poor uterine development in Turner syndrome with oral oestrogen therapy». *Clin Endocrinol (Oxf.)* 2002; 56: 359-65.
11. SAENGER, P.: «Turner' syndrome». *N Engl J Med* 1996; 335 (II): 1749-54.

12. FERRÁNDEZ, A.; LABARTA, J. I.; CALVO, M. et al.: «Síndrome de Turner». En POMBO, M.: *Tratado de Endocrinología Pediátrica*. McGraw-Hill-Interamericana. Madrid 2002; 781-803.
13. CERVANTES, A.; GUEVARA-YÁÑEZ, R.; LÓPEZ, M. et al.: «PCR, PRINS, FISH analysis of structurally abnormal sex chromosomes in eight patients with Turner phenotype». *Clin Genet* 2001; 60; 385-92.
14. WIT, J. M.; MASSARANO, A.A.; KAMP, G.A. et al.: «Growth hormone (GH) secretion in Turner girls as determined by time series analysis», *Acta Endocrinol* 1992; 127: 7-12.
15. PIRAZZOLI, P.; MAZZANTI, L.; BERGAMASCHI, R. et al.: «Reduced spontaneous growth hormone secretion in patients with Turner's syndrome». *Acta Paediatr* 1999; 88: 610.
16. KOSHO, T.; MUROYA, K.; NAGAI, T. et al.: «Skeletal features and growth patterns in 14 patients with haploinsufficiency of SHOX. Implications for the development of Turner's syndrome». *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 4613-21.
17. BRAMSWIG, J. H.: «Long-term results of growth hormone therapy in Turner syndrome». *Endocrine* 2001; 15: 5-13.
18. NAERAA, R. W.; GRAVHOLT, C. H.; KASTRUP, K. W. et al.: «Morning versus evening administration of estradiol to girls with Turner syndrome receiving growth hormone. Impact on growth hormone and metabolism. A randomized placebo-controlled crossover study». *Acta Paediatr* 2001; 90: 526-31.
19. LINDEN, M.; BENDER, B. G.; ROBINSON, A.: «Intrauterine diagnosis of sex chromosome aneuploidy». *Obstet Gynecol* 1996; 87: 468-75.
20. VERP, M. S.; BOMBARD, A. T.; SIMPSON, J. L. et al.: «Parental decision following prenatal diagnosis of fetal chromosomal abnormality». *Am J Med genet* 1988; 29: 613-22.
21. DONNAI, D.: «Genetic conseuling in the pre-pregnancy clinic». En Brock, D. J. H.; Rodeck, C. H.; Ferguson-Smith, M. A. eds.: *Prenatal Diagnosis and screening*. Edinbourgh, Scotland. Churchill-Livingstone, 1992: 3-12.

INTERVENCIONES

Prof. Nogales Espert

Tras felicitar al Prof. Casado por la magnífica lección —como todas las suyas— que acaba de dictar, querría formularle 2 preguntas sobre la misma:

¿Qué circunstancias piensa usted que concurren en la producción de fenocopias del Síndrome de Turner?, ¿quizás se deban a genopatías aún no conocidas?

En su experiencia ¿ha encontrado usted algún caso de Síndro-

me de Turner con retraso mental o alguna alteración intelectual importante?

Prof. Escudero Fernández

En primer lugar, felicitar al Prof. Casado por la oportunidad de traer a la Academia un tema tan interesante.

Quiero llamar la atención sobre la importancia del diagnóstico prenatal bioquímico y ecográfico que hacemos de forma sistemática en nuestro Departamento. Con respecto al ecográfico, la determinación de la somnolencia nucal entre la 11.^a y 13.^a semana se hace de forma obligatoria y ello evita o indica la práctica de la amniocentesis hacia la 16.^a semana. Cuando la sonulencia es positiva, como en los casos que ha presentado el Profesor Casado, es obligada la amniocentesis a pesar de sus cada vez mínimos riesgos. Aprovecho para agradecer al Profesor Casado que me haya nombrado al presentar las fotos de pliegue nucal que le facilite.

Por otro lado, es claro que el diagnóstico de Síndrome de Turner hay que hacerlo por cariotipo, porque no siempre los signos clínicos, tales como cuello alado, tórax en escudo, cubitus valgus, etc., se dan en pacientes con una dotación de 45 cromosomas (45X0), ya que son frecuentes los casos de mosaicismos (cariotipos con una línea celular XO y otra 46XX) y que cursan con hipogonadismo hipergonadotropo y sobre todo de FSH y demás sintomatología, amenorrea, infantilismo, etc.

En cuanto al tratamiento, totalmente de acuerdo con el uso de estrógenos conjugados a dosis progresivamente aumentadas y hormona de crecimiento.

El que se queden embarazadas por técnicas de fertilización *in vitro* prestando su útero como un «útero de alquiler», es mejor que los excepcionales de casos de embarazo espontáneo en un Turner, en los que hay un aumento de fetos con cromosopatías.

Nada más, felicitarle nuevamente y agradecerle su conferencia.

CONTESTACIÓN DEL PROF. CASADO

El Prof. Casado respondió a la primera pregunta planteada por el Prof. Nogales diciendo que, muy probablemente, la gran mayo-

ría de fenocopias se debían a mosaicismos que no pudieron ser diagnosticados.

Respecto a la segunda pregunta el Prof. Casado contestó que todos los casos de S. de Turner que él había tratado eran de inteligencia normal; incluso alguno de ellos había cursado una carrera universitaria. Conocía que se habían descrito algunas alteraciones intelectuales en estos pacientes, pero que él, personalmente, no había observado ninguna.

SUEÑO, APRENDIZAJE Y MEMORIA

SLEEP, LEARNING AND MEMORY

Por el Excmo. Sr. D. FERNANDO REINOSO SUÁREZ

Académico de Número

Resumen

El tema «Sueño, Aprendizaje y Memoria» es de plena actualidad. Sobre él se ha escrito mucho en los últimos veinte años, publicaciones en las que existen grandes contradicciones. Esta situación es lógica porque es un tema complejo y, por tanto, sin soluciones sencillas. Quedan por precisar, tanto a nivel experimental básico como clínico, gran número de hechos, para cuya interpretación es necesario tener siempre una visión unitaria del funcionamiento del sistema nervioso del hombre.

Hoy podemos afirmar que para un correcto aprendizaje y procesamiento de la memoria es necesario que tenga lugar, normal y armónicamente, todo el ciclo vigilia-sueño, incluyendo los estados de transición interfases.

Son muchos los hechos que demuestran el especial y determinante papel del sueño REM en los mecanismos de consolidación de la memoria.

Abstract

As a subject, «Sleep, Learning and Memory» is quite lively. Many papers have been published on this subject in the last 20 years. However, these papers present major contradictions. This is logic because it is a complex subjects and, consequently, without simple solutions. It is important to be precise, as much on a basic as on a clinical experimental level, in a large number of questions. For a correct interpretation of the data it is necessary to sustain a unified vision of human nervous system function.

Today we can affirm that, for correct learning and memory processing, a normal and harmonic sleep-wakefulness cycle, including the interphase transsition states, is essential.

Many findings demonstrate the special and determining role of REM sleep in the mechanisms of memory consolidation.

Comienzo hoy mi intervención con cierto miedo, acordándome del penoso espectáculo que proporcioné a esta audiencia al finalizar mi conferencia del año pasado. Gracias a todos por los detalles de comprensión y cariño que tuvisteis conmigo, que espero no tengan que repetirse este año.

He elegido un tema para mi charla en primer lugar porque lo creo de actualidad y también porque es un tema que me ha intrigado desde siempre y al que los últimos quince años he prestado una atención especial. Que el dormir bien tiene que ver con el aprendizaje y la memoria es una vivencia que tengo desde la mi primera infancia, como creo que le ocurre a toda persona con un poco de sentido común y alguna experiencia. Además de que mis padres nos educaron en una vida ordenada en las que ocho horas de sueño, siempre a la misma hora, acostarse y levantarse con las gallinas decía mi madre, como base de una actividad física e intelectual sanas y eficaces, no puedo olvidar la recomendación de mi abuela de que «lección dormida lección aprendida» que practiqué en mi vida como estudiante, como opositor y como profesor y lo sigo practicando en mi etapa como jubilado.

Desde mediados de los años ochenta he tratado de buscarle justificación científica a este convencimiento que he experimentado en la práctica durante tanto tiempo. Y creo que se la he encontrado y podría decir que en los últimos años hasta me he visto desbordado por la bibliografía y contradicciones conceptuales sobre el tema. A mediados de los años ochenta leí una serie de trabajos de psicólogos ingleses que demostraban, en estudios realizados en voluntarios estudiantes universitarios, problemas de aprendizaje relacionados con la falta de sueño o con una higiene irregular del sueño aunque comprendiera sólo algunos días de la semana. Por esa misma época (De Andrés et al., 1985) confirmamos utilizando pequeñas lesiones electrolíticas que la parte ventral del núcleo reticular oral del puente era una región especialmente relacionada con el sueño REM. Este sueño REM era sabido transcurría con un ritmo especial (ritmo theta) en hipocampo. El hipocampo era una estructura clave en el proceso de consolidación de la memoria (Zola-Morgan *et al.*, 1986). A principio de los años noventa demostramos que la parte ventral del núcleo reticular oral del puente es la única estructura del tronco del encéfalo cuya estimulación química con bajas dosis y pequeñas cantidades del agonista colinérgico carbachol produce una rápida y duradera aparición de sueño REM con todas sus manifes-

taciones bioeléctricas y comportamentales, también el ritmo theta (Reinoso-Suarez, *et al.*, 1990, 1994; Garzón *et al.*, 1998; para una revisión ver Reinoso Suárez *et al.*, 1999, 2001). Por estimulación eléctrica de esta estructura se produce ritmo theta en el hipocampo (Núñez *et al.*, 1991). Se había considerado como equivalente celular de la memoria una potenciación sináptica, que ocurre por largo tiempo por la estimulación repetitiva del hipocampo y que recibe el nombre de potenciación a largo plazo (Blis y Collingridge, 1993). Se había logrado con mucha más facilidad la potenciación a largo plazo en el hipocampo si el estímulo se aplica coincidiendo con los picos de las ondas «theta» del sueño REM (para una revisión véase Winson, 1993). Todos estos datos unidos nos hacían pensar en la importancia del sueño y especialmente el sueño REM en la consolidación de la memoria, y así comenzamos a explicarlo a nuestros alumnos del curso tercero de Medicina de Neurobiología y del doctorado de Neurociencia.

En una reciente publicación en la revista *Nature Neuroscience* se hacía una encuesta sobre los temas que el público en general desea leer en relación con Neurociencia (Herculano-Houzel, 2003). De entre 18 temas, entre los que encontraban enfermedades del sistema nervioso y su tratamiento, los seis temas que más interesan al público son: memoria, conciencia, aprendizaje, emoción, desarrollo y sueño, es decir, en orden inverso el primero, tercero y sexto los del título de esta charla. Ello demuestra el interés de estos temas, más aún si los unimos en un solo apartado.

En mi discurso de ingreso en esta Real Academia Nacional de Medicina el año 1995 sobre «Anatomía de la Memoria» definía el aprendizaje como el proceso de adquirir nueva información o conocimiento y habilidades y la memoria como la persistencia del aprendizaje de forma que pueda ser recuperado en un estado posterior (Reinoso-Suárez, 1995). Concluía que la memoria es la consecuencia usual del aprendizaje. Señalaba más adelante que sin memoria no hay conciencia, ni identidad personal, ni colectiva. Quizás sea esa la causa de que la memoria nos preocupe tanto a todos y, principalmente, a los que vamos cumpliendo cierta edad, pues no estamos convencidos de que nuestra memoria no sea más flaca que hace unos años.

También en ese mismo discurso resumí: «Existe en primer lugar un grupo de estructuras necesarias para el procesamiento de la información sensorial y el depósito de la información procesada, formado

por las cortezas sensitivas y las cortezas asociativas uni- y heteromodales, que se comunican a través de una red de conexiones bidireccionales. Destaca entre ellas la corteza prefrontal. Estas estructuras permiten la percepción, la memoria a corto plazo y son depósito de la memoria explícita. Un segundo grupo de estructuras, responsables de la consolidación de la memoria, está constituido por la formación del hipocampo y el tálamo medial. Ambos, hipocampo y tálamo, están, de forma más o menos directa, conectados con las cortezas asociativas. Están, también, unidos de forma directa con la corteza prefrontal, principalmente con su porción orbitaria medial, quizá un centro nodal de la red. El hipocampo y el tálamo medial actuarían durante un tiempo limitado sobre el resto de la red neuronal, hasta que se consolidaran las conexiones entre sus diferentes componentes, quizás por un mecanismo de potenciación a largo plazo. La corteza prefrontal actuaría no sólo durante el período de consolidación de la memoria, sino también durante el posterior uso de esa información, pues participa en los mecanismos de recuperación de la memoria.

Habría que añadir en este esquema a los núcleos talámicos laterales y al dorsomedial en su papel de relacionar áreas corticales asociativas entre sí, lo que contribuiría al procesamiento de la información. Igualmente es preciso recordar los sistemas bioquímicos troncoencefálicos y del prosencéfalo basal como moduladores para el correcto funcionamiento del tálamo y la corteza cerebral». Estos conceptos los trasladé a un esquema años más tarde que hoy reproduzco como figura 1.

En un trabajo posterior (Reinoso-Suárez, 1996) señalaba «El proceso de *consolidación en la memoria parece ocurrir esencialmente durante el sueño*, principalmente durante el sueño REM. En la vigilia los circuitos que integran el hipocampo y las cortezas asociativas están sometidos a estímulos externos en el procesamiento de nueva información y en la percepción. Durante el sueño estos circuitos funcionan por estímulos internos programados, que dan lugar a la actividad mental del sueño, principalmente los sueños que ocurren durante las fases de sueño REM (Winson, 1993; Reinoso-Suárez, 1993, 1995a). Soportes experimentales y motivaciones computacionales suponen la posibilidad de que se debe dormir para organizar representaciones corticales eficientes de experiencia (Sejnowski, 1995). Experimentalmente se ha comprobado que la supresión del sueño REM en individuos adultos dificulta el aprendizaje (Karni *et al.*, 1994; Smith, 1995; Buzsáki, 1996; Dotto, 1996)».



FIGURA 1.

En los pasados años me ocupé de la neurobiología de los diferentes estados del ciclo vigilia-sueño (Reinoso-Suárez, 1997, 1998, 1999). En estos trabajos expliqué que el sueño no es sólo un fenómeno activo, necesario y periódico, sino que es también un proceso variado y complejo. Hice desde el principio un esquema de la organización del ciclo vigilia-sueño que he ido simplificando en ocasiones posteriores y que esquematizo en la figura 2 (Reinoso-Suárez *et al.*, 1999, 2001; De la Roza y Reinoso-Suárez, 2000). Todos estos estados dependen de la actuación activa de extensas redes de estructuras nerviosas diferentes, estrechamente relacionadas entre sí como queda representado en la figura 2. En esta figura también observamos que en el sueño hemos diferenciado dos estados: el sueño NO REM y el sueño REM. El primero se ha dividido en el hombre en cuatro fases distintas que aquí unimos en una sola (Reinoso-Suárez, 1998). Las redes neuronales responsables de los estados o fases del ciclo vigilia-sueño utilizan neurotransmisores concretos, y, a su vez, están unidas entre ellas constituyendo una más extensa red que será la responsable del ciclo vigilia-sueño en la que podrá organizarse la secuencia del ciclo a través de las conexiones recípro-

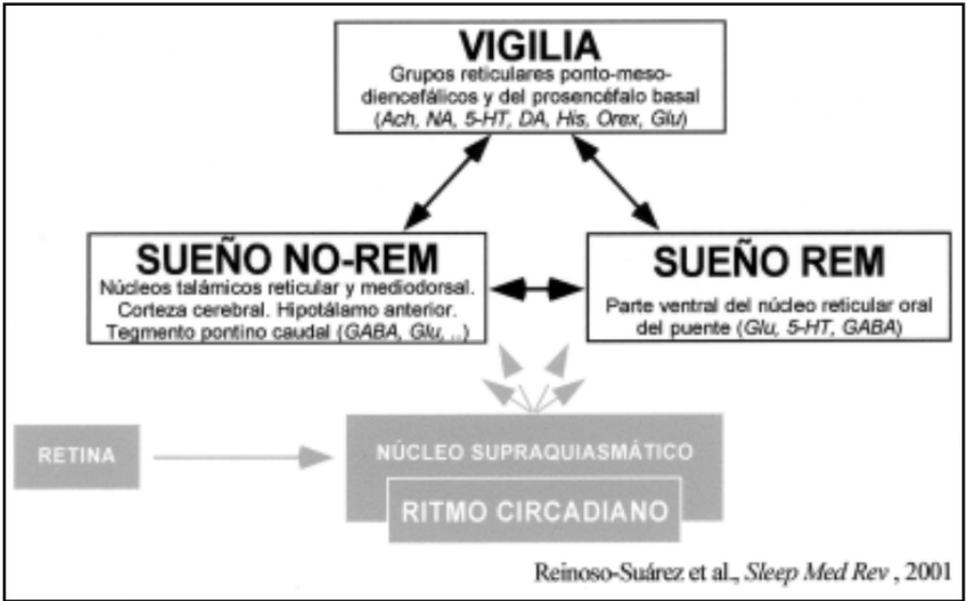


FIGURA 2.

cas entre todas las estructuras responsables de sus diferentes fases. Este ciclo tiene una duración de 24 horas y constituye por tanto un ritmo circadiano. Necesita de un *dador de tiempo* o marcapasos que es el núcleo supraquiasmático, situado en el hipotálamo anterior sobre el quiasma óptico (Fig. 2). El núcleo supraquiasmático impone un ritmo de entre 25 y 29 horas que debe ser modulado a las 24 horas del día, por factores ambientales y sociales, de los que el mejor conocido son los impulsos que le llegan de la retina.

La alternancia entre los diferentes estados del ciclo vigilia-sueño es el resultado de la interacción recíproca entre todas las estructuras envueltas en el control de estos estados. El paso de un estado a otro depende del equilibrio entre excitación e inhibición de las conexiones recíprocas entre esas estructuras. Así, por ejemplo, el balance entre excitación e inhibición de las conexiones entre las estructuras que controlan la vigilia y el sueño NO REM, con la parte ventral del núcleo reticular del puente, estructura que controla el sueño REM, aumentará o disminuirá la actividad neuronal en esta estructura. En el primer caso, la parte ventral del núcleo reticular oral del puente pondrá de acuerdo eficazmente la vasta red neuronal responsable de la inducción del sueño REM (De la Roza y Reinoso-Suárez, 2000; Reinoso-Suárez *et al.*, 2001; Núñez *et al.*, 2002).

Lo mismo ocurrirá en el caso de la vigilia y el sueño NO REM (Fig. 2). Por ello es de gran importancia conocer las características anatómicas, bioquímicas y funcionales de las redes neuronales que conectan entre sí todas las estructuras responsables de los tres estados del ciclo vigilia-sueño.

La vigilia ocurre durante el día, aunque puede encontrarse algún episodio de vigilia intrasueño en la noche. Es necesaria la vigilia para que podamos tener «un conocimiento exacto y reflexivo de las cosas», y para que podamos «reconocernos en nuestros atributos esenciales y podamos conocer las modificaciones que experimentamos en nosotros mismos». Por tanto, sólo durante la vigilia somos conscientes, es decir, sólo durante la vigilia «sentimos, pensamos, queremos y obramos con pleno conocimiento de lo que hacemos» y «usamos plenamente nuestros sentidos y facultades». Es durante la vigilia cuando procesamos adecuadamente la información que llega a la corteza cerebral a través de los órganos de los sentidos y desde los propioceptores e intraceptores repartidos en nuestro organismo. Es, por tanto, necesaria la vigilia para que en nuestro sistema nervioso puedan realizarse los procesos cognitivos en sus diferentes categorías.

Durante el sueño, lo mismo que ocurre en el coma, hay pérdida de conciencia, en el primer caso fácilmente recuperable con la vigilia. Pero todos somos conscientes que durante el sueño existe una actividad mental, cuya más clara manifestación son los sueños. Se ha descrito que los sueños más vívidos y mejor organizados ocurren durante el sueño REM (Reinoso-Suárez, 1996, 1998; Braun *et al.*, 1997; Reinoso-Suárez *et al.*, 1999, 2001). Para muchos estos sueños están relacionados con los procesos de consolidación del aprendizaje en la memoria. Los sueños parece son la consecuencia de hacer consciente el tránsito de información entre las redes corticotalámicas responsables del procesamiento de información y depósito de memoria e hipocampo, y las otras estructuras responsables de la consolidación de la memoria, principalmente durante el sueño REM, como he señalado más arriba. De ahí que Hobson (2002) y su grupo quieran asimilar el papel del hipocampo a la consolidación de la memoria a la naturaleza de los sueños que ocurren durante el sueño REM (Stickgold *et al.*, 2001; Fosse *et al.*, 2003).

Sin embargo, no todos los autores están de acuerdo en afirmar que sea durante el sueño cuando se consolida la memoria, aunque tampoco se atreve nadie a negarlo de forma consistente. En los úl-

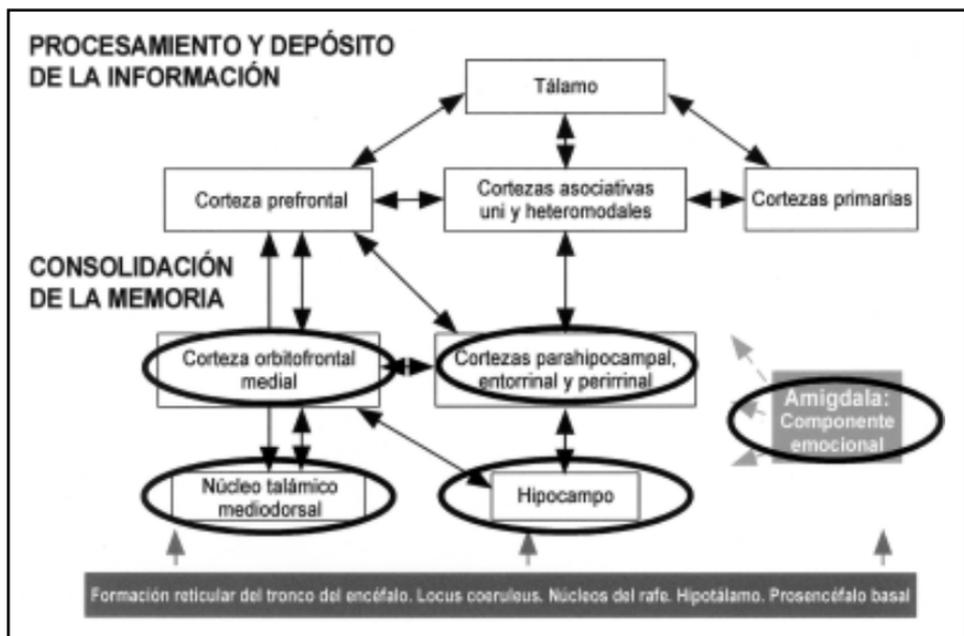


FIGURA 3.

timos años hay numerosa literatura sobre el caso, cuyo análisis formal llevaría mucho tiempo y nos conduciría a conclusiones que posiblemente nos confundirían más que dar luz sobre el tema. Por ello, voy en primer lugar a analizar a fondo cuatro publicaciones que creo son muy significativas y haré más tarde algunas consideraciones sobre otras que puedan permitirnos tener una visión constructiva del estado de la cuestión.

El criterio de selección de los dos primeros es que fueron motivo de la portada de dos revistas calificadas en 2001: uno en el número de enero de *Neuron* y el otro en el número del 2 de septiembre en *Science*.

Louie y Wilson (2001) exponen en *Neuron* un trabajo sobre replicación de la experiencia espacial adquirida durante vigilia en el sueño REM siguiente, en patrones de descarga de larga duración de neuronas del hipocampo. Louie y Wilson parten del hecho demostrado: 1) de la importancia del hipocampo en los procesos de consolidación de la memoria; 2) de que células piramidales de CA1 se activan con localizaciones específicas en el espacio (place cells de O'Keefe Dostrovsky, 1971); y 3) de que con anterioridad habían demostrado que estas células muestran reactivación durante el sueño

NO REM dependiente de la experiencia previa durante la vigilia, en escalas de tiempo cortas (milisegundos) (Wilson y McNaughton, 1994). Esta última demostración fue el primer experimento básico que hacía pensar en una participación del sueño NO REM en la consolidación de la memoria. Sin embargo, aunque este tipo de actividad no se ha podido demostrar durante el sueño REM, los autores hacen las siguientes consideraciones: 1) la riqueza de los sueños en el hombre durante el sueño REM; 2) la demostración de la necesidad del sueño REM para ciertos tipos de aprendizaje, y 3) el discurrir el sueño REM con una actividad semejante a la vigilia (activación del EEG y ritmo theta en hipocampo). Todo ello les hace pensar que las neuronas del hipocampo deben tener durante el sueño REM una actividad que se relacione con la de la experiencia previa en vigilia y suponen que quizás el problema esté en la base de tiempo. Para resolverlo registran en ratas simultáneamente la actividad de muchas neuronas del hipocampo en vigilia y en sueño REM. Lo hacen en vigilia mientras las ratas recorren un laberinto circular en cuatro ensayos en cada uno de los cuales hacen las carreras de tres cuartos del circuito dejando de recorrer en cada una un cuarto diferente. Comprueban que hay unidades que descargan cuando la rata se encuentra en una situación específica del circuito en todos los ensayos que comprenden ese sitio. Otras neuronas descargan cuando reciben la recompensa, siempre en un lugar concreto del laberinto. Los patrones de velocidad de descarga neuronal, ordenados en el tiempo, que corresponden a las pruebas en el camino circular, de una duración desde decenas de segundos a minutos que se registran durante la vigilia, se reproducen durante los episodios de sueño REM posteriores, en las mismas neuronas y con la misma escala de tiempo. Durante estos episodios de sueño REM se reproduce también la modulación del ritmo theta en las mismas condiciones que en la experiencia de vigilia. Estos hallazgos demuestran que largas secuencias temporales de patrones de actividad multineuronal, que son sugestivas huellas dejadas por la memoria episódica, son reactivadas durante el sueño REM, y concluyen que tal reactivación es importante para el procesamiento y consolidación de la memoria y aprendizaje.

Si unimos estos resultados a los de Wilson y McNaughton (1994) comprobamos que ambos, sueño NO REM y sueño REM, pueden tener un papel importante en el procesamiento y consolidación de

la memoria, si bien el sueño REM con una participación más sólida y consistente.

La publicación en *Science* es realmente una sección especial dedicada a «Sueño, Sueños y Memoria» presentada por P. Stern y artículos de opinión de: P. Maquet, grupo de A. Hobson y J. Siegel.

Stern hace una breve aseveración, con contenidos principalmente conceptuales, y presenta a los articulistas P. Maquet (2001) —investigador del comportamiento del cerebro humano durante el sueño con métodos no invasivos, principalmente PET y resonancia magnética funcional— analiza el papel del sueño en el aprendizaje y la memoria y concluye que hay muchos hechos que contribuyen a afirmar esta participación, pero que aún los datos son fragmentarios y quedan muchas preguntas por contestar. Por su parte, R. Stickgold y colaboradores (2001), del grupo de Hobson —grupo dedicado al estudio neurofisiológico del sueño REM y al estudio psicológico de los sueños— meditan sobre el papel del sueño en el procesamiento de la memoria, así como sobre la naturaleza y función de los sueños. Concluyen que hay datos experimentales suficientes para asegurar un papel importante del sueño en el aprendizaje y consolidación de la memoria. Señalan que nuevas metodologías nos permitirán profundizar científicamente sobre la posible función de los sueños y los procesos biológicos que los sostienen. Finalmente, J. M. Siegel (2001) —investigador de la neurobiología del sueño REM y todos los procesos con atonía de origen troncoencefálico— critica la hipótesis de la consolidación de la memoria por el sueño REM. Concluye que, aunque el sueño es claramente importante para la adquisición y realización de forma óptima de tareas de aprendizaje, no se ha demostrado de forma incontrovertible que tenga un papel trascendente en la consolidación de la memoria.

Esta confusión y a veces inseguridad que se percibe de la lectura de estas revisiones muestran la realidad del estado actual de la ciencia sobre este tema. Muchas veces los conceptos son consecuencia de las distintas formas o perspectivas de observación. Unos quieren simplificar y en consecuencia no encuentran una solución fácil, otros comprenden la complejidad del tema y se animan con las nuevas aportaciones, aunque sólo sean pequeños granitos de arena a añadir a la gran montaña del conocimiento del procesamiento y consolidación del aprendizaje y la memoria y de la neurobiología y funciones del sueño. Desde 2001 son numerosas las publicaciones sobre sueño y memoria. Tenemos estudios en humanos, desde es-

tudios del comportamiento de unidades en el hipocampo (Staba *et al.*, 2002), privaciones de sueño (Rollinson *et al.*, 2003) hasta estudios con resonancia magnética funcional (Otten *et al.*, 2002), siendo más numerosas las publicaciones a nivel experimental básico. De todas ellas vuelvo a comentar dos, publicadas este año, una hecha en el hombre con resonancia magnética funcional y otra a nivel celular con técnicas funcionales, morfológicas y químicas.

El primer trabajo corresponde al grupo de Maquet publicado en el número del 15 de febrero (Maquet *et al.*, 2003). En él un grupo de individuos voluntarios fue entrenado en una tarea de persecución en la que la trayectoria diana sólo era predecible en el eje horizontal. La mitad de los componentes del grupo fueron privados de sueño en la primera noche después del entrenamiento. Tres días después se comprobó por resonancia magnética nuclear los cambios en la actividad cerebral cuando seguían la trayectoria aprendida o una nueva trayectoria. El grupo de los que habían dormido realizaban mejor la prueba aprendida en comparación con los privados de sueño. Y su actividad cerebral era mayor en el surco temporal superior. También se observó un aumento de la conectividad cerebral entre el surco temporal superior y cerebelo y entre el área frontal de movimientos oculares y área suplementaria de movimientos oculares en este grupo. Estos resultados demuestran cambios plásticos relacionados con el sueño durante el aprendizaje de habilidades motoras. Igualmente señalan que el sueño tiene un papel importante en los procesos de aprendizaje y memoria que, sin embargo, parecieron iniciarse en la vigilia porque los privados de sueño, aunque no tan bien como los que durmieron, realizaron algo mejor la prueba aprendida que tres días antes.

El otro trabajo es de Thomas Klausberger *et al.*, publicado en el número de *Nature* del 15 de febrero (Klausberger *et al.*, 2003). Estudian el comportamiento de tres diferentes tipos de interneuronas del hipocampo —reconstruidas y visualizadas en su totalidad, definidas por su actividad sináptica así como por sus marcadores neuroquímicos— en actividades funcionales del hipocampo que corresponden a distintos estados del ciclo vigilia-sueño. El patrón de descarga de cada tipo de neurona individualmente es remarcablemente estereotipado y proporcionan un comportamiento único e individual en cada caso. Concluyen que los diferentes tipos de interneuronas del hipocampo, que inervan partes distintas de las células piramidales, deben coordinar la actividad de las células piramidales en una manera temporal-

mente distinta y dependiente del estado funcional del cerebro. Ello llevaría a hipotetizar que cada interneurona se comporta funcionalmente de forma diferenciada en los distintos estados del ciclo vigilia-sueño. Los autores insisten en la importancia de estos hallazgos para suponer el papel del hipocampo en los procesos de adquisición, consolidación y recuperación de información. Podríamos deducir que en cada estado tiene un papel diferente cada tipo de interneurona. E, igualmente, que el hipocampo está participando en estos procesos en todos los estados del ciclo vigilia-sueño.

Estas y otras muchas publicaciones confirman la participación del sueño en los mecanismos del aprendizaje y consolidación de la memoria. Sin embargo, en mi caso hay varios hechos que me hacen pensar en un papel especial del sueño REM en estos mecanismos. Así: 1) el hecho de que las ondas theta del hipocampo se dan de forma marcada en el sueño REM; 2) que las estructuras responsables del sueño REM en el tronco del encéfalo son también las responsables de la generación de estas ondas; 3) que los sueños más vívidos y organizados se producen durante esta fase del sueño; y 3) la demostración a nivel básico y clínico de la participación y necesidad del sueño REM para ciertos tipos de aprendizaje.

TABLA I

FLUJO SANGUÍNEO CEREBRAL REGIONAL MEDIDO
POR PET DURANTE SUEÑO REM

Aumenta:**Formación reticular pontina** y mesencefálica

Vermis cerebeloso

Hipotálamo y **tálamo****Ganglios basales, amígdala**, prosencéfalo basal**Cortezas orbitofrontal medial, cingular anterior, parahipocampal e insular anterior****Hipocampo**

Cortezas asociativas unimodales

Disminuye:Cortezas sensitivas primarias (**corteza visual primaria**)**Cortezas prefrontal dorsolateral y orbitofrontal lateral**Circunvoluciones angular y **supramarginal****Corteza cingular posterior**

Pero, sobre todo, desde hace unos años, hallazgos en la actividad cerebral medida por el aumento del flujo sanguíneo cerebral por PET durante el sueño REM, me confirmaron la importancia del sueño REM en la consolidación de la memoria (Reinoso-Suárez *et al.*, 1999). Efectivamente, si nosotros comparamos las estructuras, que de acuerdo con la mayor parte de los autores que han estudiado el flujo sanguíneo cerebral regional durante el sueño REM representados en la tabla I, aumentan este flujo durante el sueño REM y las comparamos con las estructuras responsables de la consolidación de la memoria en la figura 1, observamos con sorpresa que son las mismas estructuras. En esta tabla están en negrita las estructuras que disminuyeron o aumentaron el flujo sanguíneo cerebral de acuerdo con más de un autor. Así observamos que aumenta el flujo en la formación reticular pontina, hecho que es consistente con el encontrarse en esta región la estructura responsable de la organización, generación y mantenimiento del sueño REM (Reinoso Suárez, *et al.*, 1994, 1999, 2001; Garzón *et al.*, 1997, 1998; Reinoso-Suárez, 1998). El aumento del flujo en tálamo se hace especialmente en su parte medial, a nivel del núcleo dorsomedial, que, como vemos en la fig. 1, es una estructura esencial en la consolidación de la memoria. Los ganglios basales, aunque no están en la figura 1, son también esenciales en la consolidación de la memoria y de una forma imprescindible en la memoria implícita de habilidades. La siguiente estructura en negritas, la amígdala, es esencial para la memoria, especialmente el componente emocional tan importante en muchos casos para su consolidación. Igualmente son imprescindibles en diferentes aspectos las cortezas orbitofrontal medial, insular y cingular anteriores, y la circunvolución parahipocampal en la que se encuentran las cortezas perirrinal, entorrinal y parahipocampal propiamente dicha. Numerosos hallazgos demuestran la importancia de todas estas estructuras en el proceso de consolidación de la memoria, unas no sólo como camino imprescindible de las relaciones entre hipocampo y cortezas asociativas, sino también con misiones específicas en las funciones de adquisición y recuperación de la información objeto de la memoria. La corteza orbitofrontal medial tenemos que considerarla como región nodal que es necesaria para ensamblar y analizar experiencias pasadas y presentes, uniendo experiencias y objetivos personales con señales externas, para así organizar la conducta más adecuada (Cavada *et al.*, 2000). Y, finalmente, el hipocampo estructura imprescindible para la consolidación

de la memoria (para fundamentar bibliográficamente todo este apartado, ver Reinoso-Suárez, 1995, 1996; Reinoso-Suárez *et al.*, 1999).

Todos estos últimos hechos queda gráficamente representados en la figura 3 en la que hemos envuelto en una elipse las estructuras que se activan durante el sueño REM, que son, como he dicho, las responsables de la consolidación de la memoria. Lo que, como señalaba, confirma que el sueño REM tiene un papel importante en la consolidación de la memoria. Sin embargo, el que sean estas estructuras las que se activen durante el sueño REM, para otros autores es la causa de las características de los sueños que ocurren durante el sueño REM. Los sueños que ocurren durante el sueño REM suelen ser vivos, intensos, grotescos y emocionales. Ello es debido, posiblemente, a la activación de las cortezas límbicas; y también, por carecer de la influencia moderadora de la corteza prefrontal (Braun *et al.*, 1997). Tampoco es cierto que sean siempre así los sueños que ocurren durante el sueño REM y se siguen activando las mismas estructuras.

Antes de terminar me gustaría hacer algunas consideraciones que opino de interés: la primera corresponde a una reciente afirmación en la revista *TINS* de Cahil, McGaugh y Weinberger (2001), tres clásicos del estudio de la memoria. Señalan que hemos aprendido mucho en los últimos cien años sobre la neurobiología del aprendizaje y la memoria. Hemos, igualmente, aprendido de cómo y cómo no debemos investigar sobre este complejo proceso. Sin embargo, con el rápido crecimiento del área y la influencia de investigadores no familiares con este pasado, esta lección crucial falla hoy demasiado a menudo en guiar la investigación. Tenemos la necesidad de señalar cuidadosamente la distinción aprendizaje/ejecución, contar igualmente con pensamientos sintéticos y reduccionistas, y evitar la seducción de la simplicidad. Yo siempre he informado a mis discípulos y alumnos que cualquier solución sencilla a un problema en sistema nervioso, más si está relacionada con la conducta del hombre, tiene todos los visos de ser falsa. A lo largo de más de cincuenta años dedicados al estudio del sistema nervioso he comprobado que muchas propuestas sencillas, que como tales tuvieron un gran éxito principalmente en revistas muy destacadas, se ha demostrado sistemáticamente que eran falsas. Es verdad que la polémica que despertaron algunas de ellas han contribuido a un desarrollo marcado de ese área de la neurociencia. Es importante tener claro por una parte la unidad del sistema nervioso y por otra que toda función se estructura en extensas redes

neuronales, el conocimiento de las mismas, sus componentes, neurotransmisores, organización sináptica y relación con otras redes responsables de otras funciones es imprescindible para conocer su forma de acción. Todo ello debemos tenerlo en cuenta al hablar de sueño, aprendizaje y memoria.

La segunda consideración es la complejidad y la diversidad de hallazgos, algunos de los cuales hemos señalado en las relaciones sueño, aprendizaje y memoria. En ellas hemos visto que una mayoría de hechos demuestran que el ciclo vigilia-sueño en sus diferentes fases tiene un importante papel en el procesamiento de la información, en el aprendizaje y en la memoria.

Y la tercera es la consideración de la «Hipótesis secuencial de aprendizaje y sueño» de Ambrosini y Giuditta que revisaron en *Sleep Medicine Review* en 2001. Según estos autores, para la adquisición de nuevas memorias es importante la interacción secuencial de los estados de vigilia —sueño NO REM—, transición a sueño REM —sueño REM—, vigilia, así como el tiempo proporcional de duración de sueño NO REM, estado de transición y sueño REM. Ellos lo demuestran experimentalmente y el examen cuidadoso de todas las experiencias científicas y de observación, más el sentido común, confirman su validez.

De esta forma, hemos podido resumir nuestro trabajo en las siguientes conclusiones:

1. Las relaciones «sueño, aprendizaje y memoria» es un problema complejo sobre el que existe abundante información. Sin embargo, es importante precisar gran número de hechos, siempre con una visión unitaria del funcionamiento del sistema nervioso del hombre.
2. Para un correcto aprendizaje y procesamiento de la memoria es necesario que tenga lugar, normal y armónicamente, todo el ciclo vigilia-sueño, incluyendo los estados intermedios.
3. Son muchos los hechos que demuestran el especial papel del sueño REM, y los sueños que en él ocurren, en los mecanismos de consolidación de la memoria.

BIBLIOGRAFÍA

- AMBROSINI, M. V.; GIUDITTA, A. (2001): «Lerning and sleep: the sequential hypothesis». *Sleep Med Rev* 5: 476-490.
- BLISS, T.V.P.; COLLINGRIDGE, G.L. (1993): «A synaptic model of memory: Long-term potentiation in the hippocampus». *Nature* 361: 31-39.

- BRAUN, A.R.; BALKIN, T.J.; WESENSTEN, N.T.; CARSON, R.E.; VARGA, M.; BALDWIN, P.; SELBIE, S.; BELENKEY, G.; HERSCOVITCH, P. (1997): «Regional cerebral blood flow throughout the sleep-wake cycle». *Brain* 120: 1173-1197.
- BRAUN, A.R.; BALKIN, T.J.; WESENSTEN, N.J.; GWADRY, F.; CARSON, R.E.; VARGA, M.; BALDWIN, P.; BELENKI, G.; HERSCOVITCH, P. (1998): «Dissociated pattern of activity in visual cortices and their projections during human rapid eye movement sleep». *Science* 279: 91-95.
- BUZSÁKI, G. (1996): «The hippocampo-neocortical dialogue». *Cerebral Cortex* 6: 81-92.
- CAHILL, L.; MCGAUGH, J.L.; WEINBERGER, N.M. (2001): «The neurobiology of learning and memory: some reminders to remember». *Trends Neurosci* 24: 578-581.
- CAVADA, C.; COMPAÑY T.; TEJEDOR, J.; CRUZ.RIZZOLO, R.J.; REINOSO-SUÁREZ, F. (2000): «The anatomical connections of the macaque monkey orbitofrontal cortex. A review». *Cerebral Cortex* 10: 220-242.
- DE ANDRÉS, I.; GÓMEZ-MONTOYA, J.; GUTIÉRREZ-RIVAS, E.; REINOSO-SUÁREZ, F. (1985): «Differential action upon sleep states of ventrolateral and central areas of pontine reticular field». *Arch Ital Biol* 123: 1-11.
- DE LA ROZA, C.; REINOSO-SUÁREZ, F. (2000): «Ultrastructure and synaptic organization of axon terminals of the ventral part of the oral pontine reticular nucleus». *J Comp Neurol* 418: 93-105.
- DOTTO, L. (1996): «Sleep stages, memory and learning». *Can Med Assoc J* 154: 1193-1196.
- FOSSE, M.J.; FOSSE, R.; HOBSON, J.A.; STICKGOLD, R.J. (2003): «Dreaming and episodic memory: a functional dissociation? *J Cogn Neurosci* 15: 1-9.
- 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». *Neurosci* 83: 1137-1144.
- HERCULANO-HOUZEL, S. (2003): «What does the public want to know about the brain?». *Nat Neurosci* 6: 325.
- HOBSON, J.A. (2002): «Dreaming. An introduction to the science of sleep». Oxford University Press. New York.
- KARMI, A.; TANNE, D.; RUBENSTEIN, B.S.; ASKENASY, J.J.; SAGI, D. (1994): «Dependence on REM sleep of overnight improvement of a perceptual skill». *Science* 265: 679-682.
- KLAUSBERGER, T.; MAGILL, P.J.; MÁRTON, L.F.; ROBERTS, J.D.B.; BOBDEN, P.M.; BUZSÁKI, G.; SOMOGYI, P. (2003): «Brain-state and cell-type-specific firing of hippocampal interneurons *in vivo*». *Nature* 421, 844-848.
- LOUIE, K.; WILSON, M.A. (2001): «Temporally structured replay of awake hippocampal ensemble activity during rapid eye movement sleep». *Neuron* 29: 145-156.
- MAQUET, P. (2001): «The role of sleep in learning and memory». *Science* 294: 1048-1052.
- MAQUET, P.; PÉTERS, J.-M.; AERTS, J.; DELFIORE, G.; DEGUELDRE, C.; LUXEN, A.; FRANCK, G. (1996): «Functional neuroanatomy of human rapid-eye-movement sleep and dreaming». *Nature* 383: 163-166.

- MAQUET, P.; SCHWARTZ, S.; PASSINGHAM, R.; FRITH, C. (2003): «Sleep-related consolidation of a visuomotor skill: brain mechanisms as assessed by functional resonance imaging». *J Neurosci* 23: 1432-1440.
- NOFZINGER, E.A.; MINTUN, M.A.; WISEMAN, M.B.; KUPFER, D.J.; MOORE, R.Y. (1997): «Forebrain activation in REM sleep: an FDG PET study». *Brain Res* 770: 192-201.
- NÚÑEZ, A.; DE ANDRÉS, I.; GARCÍA-AUSTT, E. (1991): «Relationships of nucleus reticularis pontis oralis neuronal discharge with sensory and carbachol evoked hippocampal theta rhythm». *Exp. Brain Res* 87: 303-308.
- NÚÑEZ, A.; RODRIGO-ANGULO, M.L.; DE ANDRÉS, I., AND REINOSO-SUÁREZ, F. (2002): «Firing activity and postsynaptic properties of morphologically identified neurons of ventral oral pontine reticular neurons». *Neurosci* 115: 1165-1175.
- OTTEN, L.J.; HENSON, R.N.A.; RUGG, M.D. (2002): «State-related and item-related neural correlates of successful memory encoding». *Nature Neurosci.* 5: 1339-1344.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1995): *Anatomía de la Memoria*. Instituto de España. Real Academia Nacional de Medicina, Madrid.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1996): «Neurobiología de la memoria en el hombre y otros primates». En *¿Cómo funciona el cerebro?* Universidad de Valladolid. Fundación Duques de Soria, pp. 67-87.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1997): «Neurobiología del despertar y la vigilia». *An R Acad Nac Med.* (Madrid) 114: 249-264.
- REINOSO-SUÁREZ, F. (1998): «Identificación del director de la orquesta neuronal responsable del sueño paradójico». *An R Acad Nac Med.* (Madrid): 115: 239-259.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; RODRIGO-ANGULO, M.L.; RODRÍGUEZ-VEIGA, E.; DE ANDRÉS, I. (1990): «Thalamic connections of the oral pontine tegmentum sites whose cholinergic stimulation produces enhancement of paradoxical sleep signs». In: *The Diencephalon and Sleep*. M. Mancía and G. Marini (eds.). Raven Press, New York, 1990, pp. 49-63.
- 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 ANDRÉS, I.; RODRIGO, M.L.; DE LA ROZA, C.; NÚÑEZ, A.; GARZÓN, M. (1999): «The anatomy of dreaming and REM sleep». *Eur J Anat* 3: 163-175.
- REINOSO-SUÁREZ, F.; DE ANDRÉS, I.; RODRIGO-ANGULO, M.; GARZÓN, M. (2001): «Brain structures and mechanisms involved in the generation of REM sleep». *Sleep Med Rev* 5: 63-78.
- ROLLINSON, D.C.; RATHLEV, N.K.; MOSS, M.; KILLIANY, R.; SASSOWER, K.C.; AUERBACH, S.; FISH, S.S. (2003): «The effect of consecutive night shifts on neuropsychological performance of interns in the emergency department: A pilot study». *Ann Emerg Med* 41: 400-406.
- SEJNOWSKI, T.J. (1995): «Neural networks. Sleep and memory». *Curr Biol* 5: 832-834.
- SIEGEL, J.M. (2001): «The REM sleep-memory consolidation hypothesis». *Science* 294: 1058-1063.

- SMITH, C. (1995): «Sleep states and memory processes». *Behav Brain Res* 69: 137-145.
- STABA, R.J.; WILSON, C.L.; FRIED, I.; ENGEL, J. Jr. (2002): «Single neuron burst firing in the human hippocampus during sleep». *Hippocampus* 12: 724-734.
- STERN, P. (2001): «Sweet dreams are made of this». *Science* 294: 1047.
- STICKGOLD, R.; HOBSON, J.A., FOSSE, R.; FOSSE, M. (2001): «Sleep, learning and dreams: off-line memory reprocessing». *Science* 294: 1052-1057.
- WILSON, M.A.; MCNAUGHTON, B.L. (1994): «Reactivation of hippocampal ensemble memories during sleep». *Science* 265: 676-679.
- WINSON, J. (1993): «The biology and function of rapid eye movement sleep». *Curr Opin Neurobiol* 3: 243-248.
- ZOLA-MORGAN, S.; SQUIRE, L.R.; AMARAL, D.G. (1986): «Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus». *J Neurosci* 6: 2950-2957.

Agradecimientos: Trabajo realizado con la ayuda del Ministerio de Ciencia y Tecnología: BFI2002-01314.

INTERVENCIÓN DEL PROF. RUBIA VILA

Quisiera felicitar al Prof. Reinoso por su conferencia y, sobre todo, porque aunque está jubilado, como él dijo, parece que ahora está más activo que nunca.

Me gustaría hacer de abogado del diablo. Es evidente que las células del hipocampo se activan durante el sueño, pero lo que no está claro es si lo hacen por el recuerdo o por la consolidación. Además, desde la hipótesis de O'Keefe de las células de lugar, se sabe que el hipocampo está implicado en la memoria espacial, pero toda la memoria no es espacial; ¿dónde se consolida el resto?

Está claro que los esquizofrénicos tienen problemas con el sueño y también es importante que en la corteza orbitofrontal se encuentre la organización del sueño no-REM. Ahora bien, la privación del sueño REM produce síntomas psicóticos; por tanto, ¿qué es primero, los problemas con el sueño que contribuyen a la psicosis o la psicosis que trastorna el sueño?

Finalmente, sin duda, el sueño es bueno para todo y lógicamente también para el aprendizaje. Que el sueño es reparador física y psíquicamente ya lo sabíamos; por tanto, su privación puede que afecte no sólo al aprendizaje sino a muchas otras funciones.

CONTESTACIÓN DEL PROF. REINOSO SUÁREZ

Gracias, profesor Rubia, por sus palabras. Es Vd. abogado de un diablo muy benigno, aunque un poco anglificado, porque «deprivación» no es español, en español se dice «privación».

Que el hipocampo y las estructuras próximas en la cara medial del lóbulo temporal son necesarias para el proceso de consolidación de la memoria declarativa en el hombre, y no sólo de la memoria espacial, es un hecho comprobado y demostrado hace muchos años y la bibliografía es numerosa tanto a nivel experimental como clínico. Para simplificar le remito directamente a mi discurso de ingreso en esta corporación en el año 1995, aunque después se han publicado cientos de trabajos sobre el tema, algunos de los cuales puede encontrar en la bibliografía de mi intervención de hoy. Una interesante y reciente es la de Stark & Squire en la revista *Hippocampus* en 2003, en la que demuestran que la lesión del hipocampo y/o de las cortezas entorrinal, perirrinal y parahipocampal impiden igualmente la consolidación de la memoria de los componentes individuales de un estímulo como la de asociación entre estos componentes. Hay también datos experimentales en animales y clínicos en el hombre que demuestran la intervención del hipocampo en la memoria implícita.

Es toda la corteza prefrontal y principalmente la dorsolateral la que es responsable de un sueño NO REM correcto, por lo que es coherente que el esquizofrénico tenga alteraciones en esta fase del sueño. Naturalmente, es la esquizofrenia la responsable de esta alteración.

Como he dicho, ya mi abuela estaba convencida de que un sueño equilibrado y normal, acostarse y despertarse con las gallinas, era necesario para un correcto aprendizaje, pero la misión de la ciencia no es suponer cosas, sino demostrarlas. Posiblemente el sueño interviene en otras funciones, estamos pendientes de que se demuestre con hechos. En esta intervención he expuesto que hay hechos que demuestran que el sueño interviene en la consolidación de la memoria. De nuevo, gracias por su amable intervención.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Como todas las semanas, tenemos importantes ponencias. Hoy hemos ido desde la pediatría en relación con las cromosomopatías

hasta la problemática sueño-aprendizaje-memoria. Estas interrelaciones tan importantes son muy complicadas; los expertos en neurociencias llegan a una serie de conclusiones interpretativas exactas cuando son experimentalmente conseguidas.

Qué duda cabe que el hipocampo y otras estructuras con él relacionadas tiene mucha importancia en lo que es la interrelación sueño-aprendizaje, cosa que además nos ha intrigado siempre a nosotros mismos. En la relación del sueño, lo que habíamos estudiado antes de dormirnos y lo que habíamos aprendido y la comparación en el mismo individuo cuando estudia por la noche, por múltiples cuestiones fisiopatológicas, endocrinas..., cambia el ritmo del sueño.

Felicito al Prof. Reinoso por todo lo que nuevamente nos ha enseñado.

Respecto a la conferencia del Prof. Casado de Frías, yo estudié el síndrome Turner en varios casos que tuvimos, con varias formas atípicas de este síndrome. Ha hecho un resumen perfecto de las formas atípicas y atípicas del síndrome Turner que eran bastante frecuentes. Entonces no teníamos la capacidad de conocimiento de las alteraciones cromosómicas. Hay casos bien distintos de Turner, como bien has Indicado, muchas formas clínicas distintas y síndromes clínicos distintos, y lo explica el mosaicismo porque no todos los Turner son iguales, dentro de que es un síndrome genérico.

Muchas felicidades a ambos por vuestras magníficas ponencias. Se levanta la sesión.

XIII SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 20 DE MAYO DE 2003

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. DOMINGO ESPINÓS PÉREZ

¿EXISTE EL LIBRE ALBEDRÍO? ***DOES THE FREE WILL EXIST?***

Por el Excmo. Sr. D. FRANCISCO RUBIA VILA

Académico de Número

Resumen

El tema de la existencia del libre albedrío ha preocupado desde siempre a la filosofía. Subjetivamente todos tenemos la impresión de ser libres cuando realizamos un acto voluntario. Sin embargo, experimentos recientes han mostrado que la experiencia subjetiva del acto voluntario y la causa de ese acto pueden ser cosas diferentes. Mientras que el cerebro se moviliza unos 800 ms antes del movimiento, la experiencia subjetiva de la voluntad consciente tiene lugar unos 200 ms antes del movimiento. Con otras palabras: las personas experimentan la voluntad consciente cuando interpretan que su propio pensamiento es la causa de sus decisiones, lo que parece no ser más que una ilusión.

Abstract

The issue of free will is as old as the history of philosophy. We all have subjectively the impression of being free when we carry out a voluntary act. Recent experiments, however, have shown that the subjective experience of a voluntary act and its cause can be two different events. Whilst the brain

is approx. 800 ms active before the movement, the subjective experience of the conscious will occurs at approx. 200 ms before the movement. In other words: subjects experience a conscious will when they interpret that their own thoughts are the cause of their decisions, which seems to be nothing more than an illusion.

El tema de la libertad ha hecho correr ríos de tinta no sólo en filosofía, sino también en literatura. Según Ferrater Mora, la libertad se ha entendido de muy diversas maneras, a saber: como posibilidad de autodeterminación, como posibilidad de elección, como acto voluntario, como espontaneidad, como margen de indeterminación, como liberación frente a algo, como liberación para algo, como realización de una necesidad.

Existen asimismo múltiples tipos de libertad, como libertad privada o personal, libertad pública, libertad política, libertad social, libertad de acción, libertad de palabra, libertad de idea, libertad moral y muchas otras más. Esto significa que este concepto de libertad es complejo, por lo que es necesario definir de qué libertad vamos hoy a hablar.

Los griegos usaron la palabra «ελευθερια» que significa libertad en el sentido de ser libre, o sea, no esclavo, y también la palabra «ελευθεριοτης», que significa libertad de espíritu.

La expresión «libre albedrío» proviene del latín «liberum arbitrium», muy usada por teólogos y filósofos cristianos, y se diferencia de la palabra «libertas» porque ésta se refería más al estado de bienaventuranza eterna, mientras que el libre albedrío se empleaba para designar la posibilidad de elegir entre el bien y el mal. San Agustín decía: «Debe confesarse que hay en nosotros libre albedrío para hacer el mal y para hacer el bien» (*De corruptione et gratia*, I, 2).

Sería interminable mi discurso si siguiera repasando la historia de la filosofía en relación con este tema. Por razones obvias, esto no es posible. Pero, además, yo me quisiera referir aquí a la libertad como acto voluntario que es lo más apropiado a mi profesión de fisiólogo.

La idea de que existe un libre albedrío proviene, sin duda, de la impresión subjetiva que todos tenemos de ser libres cuando tomamos una decisión; y no creo que fuese correcta la conclusión que sacó Santo Tomás cuando decía que el hombre tiene libre albedrío, porque de otra suerte las exhortaciones, castigos y recompensas carecerían de sentido. Más bien lo contrario, diría yo, los castigos y recompensas se imponen por la convicción subjetiva que todos compartimos de la existencia de un libre albedrío.

Tradicionalmente se considera libre solamente al ser humano como único animal racional.

San Pablo decía: «No entiendo mis propios actos: no hago lo que quiero y hago las cosas que detesto» (Rom. 7, 15). Y un poco más adelante dice: «De hecho no hago el bien que quiero, sino el mal que no quiero».

Veamos lo que la moderna neurofisiología tiene que decir al respecto.

Se suele asumir que la experiencia de querer conscientemente una acción y la causa de esa acción tal y como se experimenta por la mente consciente son la misma cosa. Esto es precisamente lo que he llamado impresión subjetiva de la libertad de acción. Pero ha resultado, sin embargo, que son completamente distintas y la tendencia a confundirlas es la fuente de lo que se denomina la ilusión de la voluntad consciente.

David Hume define la voluntad de la siguiente manera:

«No es otra cosa que la impresión interna que sentimos y de la que somos conscientes, cuando a sabiendas damos lugar a un nuevo movimiento de nuestro cuerpo o a una nueva percepción de nuestra mente».

Esta definición coloca la experiencia personal en el mismo centro de todo el concepto —la voluntad no es ninguna causa o fuerza o motor en una persona, sino más bien es la sensación consciente, personal, subjetiva, de esta causa, fuerza o motor.

Que la voluntad es un sentimiento personal lo vemos en el «síndrome de la mano extraña», por lesión de la región medial del lóbulo frontal, en el que el paciente siente que su mano se mueve de forma autónoma, como si tuviese una mente propia. Aquí falta la impresión subjetiva de la voluntad, aunque los movimientos son voluntarios en el sentido tradicional de la palabra, o sea, son movidos por el sujeto. Un paciente describió este fenómeno como si alguien dirigiese su mano desde la luna.

Otro ejemplo de la separación entre el acto voluntario y la sensación subjetiva de la voluntad, lo tenemos en la hipnosis. Cuando el hipnotizador le dice al sujeto que su brazo se hace cada vez más pesado y va cayendo hacia abajo, etc., el sujeto no tiene la impresión de mover voluntariamente la extremidad, sino que algo le está ocurriendo externamente.

Éste es un ejemplo aún más sorprendente que el de la mano ex-

traña de la falta de experiencia de voluntad. En la mano extraña la persona simplemente no sabe lo que la mano va a hacer, pero en la hipnosis la voluntad consciente falta aun cuando el conocimiento de la acción está presente.

Con otras palabras: sin la experiencia subjetiva de la voluntad incluso el conocimiento previo de la acción es insuficiente para que esta acción sea considerada voluntaria por el propio sujeto. Si no se siente como si se hiciese, no parece que la voluntad estuviese operativa.

Hasta aquí ejemplos de la falta de sensación de voluntad aunque exista una acción. Pero hay también casos en los que hay sensación de que se está realizando algo, aunque no exista acción alguna. Uno de estos casos son los miembros fantasmas.

Los miembros fantasmas pueden sentirse que se mueven involuntariamente (cuando alguien empuja el muñón), o voluntariamente cuando el sujeto intenta moverlo.

Por regla general, las partes distales se sienten más fuertemente que las proximales, lo cual es lógico por la densidad de receptores y de neuronas sensoriales y motoras que elaboraban esa información cuando la extremidad estaba presente.

Lo que resulta sorprendente es que la intención de mover la extremidad puede crear la experiencia de voluntad consciente sin ningún tipo de acción. Esta característica ha sido interpretada como que los mensajes del cerebro a los músculos pueden percibirse antes de que estos mensajes abandonen el cerebro en su camino hacia los músculos.

La sensación de mover la extremidad parece depender de la información que proviene de la periferia. Lo mismo puede ocurrir simplemente mirando a una extremidad que se mueve.

Vilayanur Ramachandran, conocido neurólogo americano de origen indio, realizó un experimento con el miembro fantasma en el que al sujeto se le presentaba la imagen especular de su brazo sano en donde debería estar el que faltaba; el resultado fue que el sujeto sentía mover tanto el miembro sano como el fantasma (ver Figura 1).

Ramachandran sustituyó el brazo fantasma por uno del experimentador. El resultado fue que la sola visión fue suficiente para crear la sensación vívida de movimientos articulares en el brazo fantasma.

El movimiento voluntario puede experimentarse simplemente observando cualquier extremidad donde debía estar la propia. Esto no es de extrañar, dado el descubrimiento de la existencia de las llamadas «neuronas especulares» en monos, neuronas que se activan tan-

to con los propios movimientos como con la percepción de los movimientos en otros.

La estimulación cortical que realizó el neurocirujano Wilder Penfield en Canadá en los años 50, produjo movimientos sin sensación de voluntad consciente; sin embargo, Rodríguez Delgado estimuló la cápsula interna en algunos sujetos y produjo movimientos de cabeza que iban acompañados de la sensación de movimientos voluntarios. De aquí se puede deducir que la experiencia de voluntad consciente está separada de la fuente cerebral de la acción, ya que se pueden producir actos voluntarios por estimulación cerebral con o sin experiencias de voluntad consciente.

Brasil-Neto y colaboradores utilizaron en 1992 la estimulación magnética transcraneal para estimular el área motora del cerebro. Luego, el sujeto fue requerido que moviese un dedo cada vez que oía un click (el click desconectaba el magneto). Se requirió del sujeto que eligiese libremente el movimiento del índice derecho o izquierdo en cada intento. El magneto se movía alrededor del sujeto para estimular el área motora de cada lado. Aunque la estimulación llevaba al sujeto a tener una preferencia por mover el dedo del lado contralateral a la estimulación, los sujetos estaban percibiendo que eran ellos los que voluntariamente movían los dedos.

La conclusión que podemos sacar de este experimento es que la experiencia subjetiva de la voluntad puede surgir independientemente de las fuerzas causantes de la conducta.

Hasta ahora, estos son intentos de localización de la experiencia de voluntad en el espacio. Ahora veremos esa localización en el tiempo.

En 1965 Kornhuber & Deecke descubrieron el potencial de disponibilidad o potencial preparatorio que se registra en las regiones precentrales y medioparietales. Este potencial comenzaba 0.8 seg. antes del movimiento. A los 0 mseg. antes del movimiento tenía lugar el potencial del movimiento (ver Figura 2).

Pero, ¿cuándo tiene lugar la experiencia de voluntad consciente? Ésta es la pregunta que se hizo Benjamín Libet 12 años después con resultados que le asustaron. En sujetos de experimentación, Benjamín Libet pudo demostrar que la experiencia subjetiva de voluntad consciente ocurría significativamente después del inicio del potencial preparatorio. El cerebro comienza a hacer algo (a los 800 ms. antes del movimiento), luego la persona es consciente de querer mover un dedo (a los 200 ms. antes del movimiento) y luego, poco

antes del movimiento comienza la electromiografía a señalar de que se va a producir el movimiento. Finalmente, el dedo se mueve.

En realidad, estos resultados coinciden con nuestra percepción de que un segundo es un tiempo enorme para el que se debe emplear entre la decisión de mover un dedo y el movimiento de ese dedo. 200 ms. es un tiempo más apropiado con nuestra impresión subjetiva. Benjamin Libet concluyó que la iniciación del acto voluntario parece ser un proceso cerebral inconsciente.

La voluntad consciente no parece ser el agente que inicia el movimiento, sino que se encuentra entre los resultados de esa iniciación inconsciente.

Como he dicho, a Libet le asustaron estos resultados porque significaban que el albedrío es una ilusión, a pesar de nuestra impresión subjetiva de que movemos los dedos con nuestra voluntad. Entonces desarrolló una teoría que venía a decir que entre los 200 ms. en los que tenía lugar la voluntad consciente y el movimiento, el cerebro tendría la posibilidad de impedir el movimiento; es decir, algo así como el derecho al voto. Pero esta teoría tiene un punto débil importante: si a un movimiento voluntario le precede una actividad cerebral involuntaria, ¿por qué no ocurre lo mismo con el veto consciente de Libet?

Los dualistas podrían salir al paso de estas contradicciones argumentando que un espíritu inmaterial domina el libre albedrío y que este espíritu es independiente de las leyes de causa y efecto que rigen en la naturaleza. Sin embargo, para la mayoría de los científicos, esta alternativa no es real, entre otras muchas cosas porque viola las leyes de la termodinámica cuando se intentase explicar su interacción con el cerebro.

En nuestra experiencia cotidiana podemos también engañar a la sensación de voluntad consciente dejándola atrás en el tiempo, por ejemplo al responder rápidamente a una llamada telefónica o al matar una mosca nos movemos tan rápidamente que parece que dejamos atrás en el tiempo la consciencia de ese acto. Benjamin Libet lo comprobó experimentalmente haciendo que el sujeto apretase un botón cuando aparecía un estímulo luminoso. El tiempo de reacción fue de sólo de 100 mseg. mientras que la consciencia de haber respondido tardó 500 mseg. Ésta es la razón por la que pianistas, mecanógrafos o atletas no confían en la consciencia para realizar sus movimientos rápidos porque se hacen más lentos y torpes. La elaboración cerebral interna, inconsciente, de los movimientos, lo que se ha llamado pre-programación, es mucho más segura,

ya que es un movimiento sin realimentaciones, demasiado rápido para permitir las rereferencias del propio movimiento.

Resulta extraordinariamente curioso que a lo largo de la evolución el cerebro no sólo ha separado el estímulo de la respuesta, permitiendo al ser humano más grados de libertad al poder inhibir la respuesta o dilatarla en el tiempo (precisamente la labor del lóbulo frontal, o más concretamente, de la corteza prefrontal), sino que ha internalizado el mundo externo de forma que existen movimientos denominados «open loop», o de bucle abierto, sin realimentaciones, como los de la mecanógrafa, el pianista o los movimientos sacádicos del ojo, que son más rápidos y que ya salen totalmente listos para ser realizados, porque el cerebro ha hecho previamente todos los cálculos necesarios. Parece enteramente como si en la evolución hubiese habido una tendencia a una cada vez más grande separación del entorno o, mejor dicho, un mayor aislamiento, en el que el cerebro trabaja y elabora las respuestas con los mapas espaciales o temporales que ya creó a lo largo de su desarrollo ontogenético.

Volviendo al tema de esta intervención, podemos decir que comenzamos a reaccionar a un estímulo mucho antes de que seamos conscientes de esa reacción. O, dicho de otro modo: las personas experimentan la voluntad consciente cuando interpretan que su propio pensamiento es la causa de sus decisiones.

Aquí ocurre lo que en filosofía se llama «post hoc, ergo propter hoc», o sea, si ocurre después de algo, este algo es la causa de lo ocurrido, lo cual evidentemente no siempre es cierto.

La experiencia de voluntad no es la lectura directa de alguna fuerza psicológica que causa la acción dentro de nuestro cerebro. La voluntad se experimenta más bien como el resultado de una interpretación de la unión aparente entre el pensamiento consciente que aparece en asociación con la acción y la naturaleza de la acción observada. La voluntad se experimenta como el resultado de la causa mental aparente auto-percibida (ver Figura 3 y 4).

Con otras palabras: la voluntad es una experiencia consciente que se deriva de la interpretación de la propia acción como voluntariamente querida. Tanto el pensamiento como la acción pueden estar causados por otra cosa que permanece sin ser observada dejándonos sacar una conclusión causal incorrecta.

Algo de esto ya barruntaba Spinoza, quien en su *Ética* dice lo siguiente:

«Los hombres se equivocan si se creen libres; su opinión está hecha de la consciencia de sus propias acciones y de la ignorancia de las causas que las determinan. Su idea de libertad, por tanto, es simplemente su ignorancia de las causas de sus acciones».

Como ven ustedes, no hay más que remontarse un poco en el tiempo para encontrar que los pensamientos que creemos modernos ya fueron pensados en otro lugar y en otra época. Como dice el Eclesiastés: «pero lo que pasará es lo que ya pasó y todo lo que se hará ha sido ya hecho. No hay nada nuevo bajo el sol».

Thomas Henry Huxley, célebre zoólogo y abuelo de Julian y Aldous Huxley opinaba así sobre este tema:

«La sensación que llamamos volición no es la causa del acto voluntario, sino simplemente el símbolo en la consciencia de aquel estado del cerebro que es la causa inmediata del acto».

Otra opinión más reciente es de Marvin Minsky, uno de los pioneros de la inteligencia artificial:

«Ninguno de nosotros piensa que lo que hacemos depende de procesos que no conocemos; preferimos atribuir nuestras elecciones a la voluntad, volición o autocontrol... Quizá sería más honesto decir: mi decisión estuvo determinada por fuerzas internas que no comprendo».

En resumen: la investigación cerebral nos dice que «no hacemos lo que queremos, sino que queremos lo que hacemos».

Muchas gracias.

BIBLIOGRAFÍA

- WEGNER, D. M.: *The Illusion of Concious Will*. MIT Press, Bradford Books, Cambridge (Mass.), 2002.
- FERRATER MORA, J.: *Diccionario de Filosofía*. Ariel, Barcelona, 1994.
- SAN AGUSTÍN: *Obras completas*. Biblioteca de Autores Cristianos, Madrid, 1986.
- La Biblia*. Editorial Católica. Madrid, 1961.
- HUME, D.: *Enquiries concerning human undestanding and concerning the principles of morals*. Clarendon Press, Oxford, 1972.
- RAMACHANDRAN, V.: *Phantoms in the brain*. Morrow, New York, 1998.
- PENFIELD, W.: *The mystery of mind*. Princeton Univ. Press, Princeton, NJ, 1975.
- DELGADO, J. M. R.: *Physical control of the mind: Toward a psychocivilized society*. Harper and Row, New York, 1969.

- BRASIL-NETO, J. P.; A. PASCUAL-LEONE, J. VALLS-SOLÉ, L. G. COHEN, AND M. HALLETT: «Focal transcranial magnetic stimulation and response bias in a forced choice task». *Journal of Neurology, Neurosurgery and Psychiatry*, 55: 964-966, 1992.
- KORNHUBER, H. H., and L. DEECKE: «Hirnpotentialänderungen bei Willkürbewegungen und passiven Bewegungen des Menschen: Bereitschaftspotential und referente Potentiale». *Pflügers Archiv für Gesamte Psychologie*, 284: 1-17, 1965.
- LIBET, B.: *Neurophysiology of consciousness*. Birkhäuser, Boston, 1992.
- SPINOZA, B. de: *Ética*. Aguilar, Buenos Aires, 1973.
- HUXLEY, T. H.: *Methods and results*. Appleton, New Cork, 1910.
- MINSKY, M.: *The society of mind*. Simon and Schuster, New York, 1985.

INTERVENCIONES

Prof. Sánchez García

Quisiera felicitar al Prof. Rubia por su espléndida charla; mi pregunta es la siguiente:

¿El libre albedrío es sencillamente una respuesta a una causa estrictamente química? Me ha sorprendido no oír hablar de eso, en la conferencia; entonces el libre albedrío y la voluntad pueden alterarse por sustancias químicas, concretamente por medicamentos. Todos sabemos hasta qué punto pueden influir en el concepto de libre albedrío de tipo filosófico que usted ha expuesto.

Prof. Segovia de Arana

Yo también quiero felicitar al Prof. Rubia porque una vez más nos da una lección espléndida de esta actividad de la neurociencia que tanto nos apasiona y nos atrae; en su exposición ha escogido la parte más profunda, yo diría ese mecanismo de hacer una interpretación científica actual de toda una serie de conceptos filosóficos anteriores, lo cual es un enorme mérito.

Yo me quiero referir a una cosa muy concreta, esa idea, ese concepto, esa sensación de la voluntad tiene, con esas distancias temporales que puedan existir entre la apreciación de la voluntad y el acto, no importa para lo que yo quiero decir, sino simplemente señalar ¿existe por sí misma esta idea de la voluntad, ese concepto de la voluntad, está metido dentro de la memoria ancestral, de la

memoria filogenética, la memoria que se ha ido produciendo y que en el momento de nacer nos prepara para ese aprendizaje de los actos que van a venir en la vida extrauterina. Mi pregunta es concretamente:

¿Esa idea de la voluntad, absolutamente necesaria para la percepción de lo que hacemos, incluso de lo que no hacemos, porque está ahí, tiene este origen, se ha ido acumulando a lo largo de la evolución no solamente biológica, sino también de la evolución cultural?

Prof. Pérez Pérez

Yo, desde el punto de vista comparado, diría lo siguiente: Entiendo que efectivamente la voluntad y el albedrío son un proceso evolutivo; el niño, hasta que adquiere el uso de la razón, actúa por instintos y solamente cuando adquiere el uso de la razón y domina la voluntad sobre estos instintos el niño ya es educable; hasta entonces no se le puede castigar porque son los instintos lo que le mueve. Entonces, es evidente que el albedrío viene después y la voluntad, por tanto, ha dominado al instinto y cuando domina el instinto empieza el albedrío.

Pero en las especies animales el distinguir el bien y el mal es muy relativo, en algunas sí, en otras no, es decir, hay ejemplos en los cuales el animal hace las cosas de una manera diríamos distinguiendo lo que es el bien y distinguiendo lo que es el mal; en otros casos asombrosamente esto no ocurre. Por ejemplo, permitidme que os transmita una experiencia que me ocurrió el último fin de semana:

Mi casa de la sierra está rodeada de jaulas donde anidan pájaros, etc. ardillas, todo tipo de cosas, bueno, pues una ardillita de éstas cayó al suelo y mi nieto viene diciendo: «abuelito, abuelito, una ardilla»; tomamos la ardilla al principio enjaulada, esta ardilla en principio se niega a comer, es muy pequeñita, tiene los dientes muy pequeñitos, al día siguiente la expusimos y vinieron los padres locamente a la jaula a animarla, a quererla y nosotros en principio nos negamos a soltarla; los padres, mientras tanto, subieron a la jaula, se llevaron los 2 hermanitos en la boca, corriendo, y luego vinieron después a por el nido y finalmente decidimos soltarla.

Esto sí que es un acto de libre albedrío, es decir, de conocer el bien y el mal, y en las especies animales, hay ejemplos muy dife-

rentes, evidentemente, en los cuales es un grado de madurez lo que marca la voluntad y lo que marca la voluntad discriminada, saber cuál es la distinción entre el bien y el mal.

Una vez más, mi enhorabuena por esta magnífica conferencia.

Prof. Gracia Guillén

Yo quiero sumarme a las felicitaciones y añadir una cosa que está en toda la tradición filosófica, desde Grecia y en toda la Edad Media, y que yo creo que puede aclarar un poco el tema este tan complejo de la libertad: en fin, como ha dicho el Prof. Rubia, en la filosofía griega o en la cultura griega el término de libertad se usa en dos contextos: el de ελευθερία significa simplemente ser libre políticamente y el concepto más clásico, más viejo de libertad, es libertad política no es libertad metafísica, el concepto de libertad metafísica aparece en Grecia y aparece siempre en un contexto muy determinado, que es en los libros de *Ética* por ejemplo en el libro 3.º de la *Ética a Nicómaco* de Aristóteles está muy claro, y libertad ahí no es el de ελευθερία, es lo que efectivamente los latinos llamaron «libre arbitrio» y que es la capacidad de elección entre los medios. Aristóteles, como todo el mundo sabe, decía que los seres humanos no están sólo condicionados por una enorme cantidad de factores internos y externos, sino absolutamente determinados por ellos, ahora, el hecho de que un acto sea la consecuencia de un proceso determinado no quiere decir que ese acto no sea libre, en toda la tradición. Escoto pone un ejemplo muy claro de ello; pone un ejemplo que, además, es un tanto trágico, de un señor que se tira desde una altura, se quiere suicidar y en el camino cambia su voluntad, necesariamente tiene que caer para abajo, el acto tiene unos condicionantes necesarios, pero la voluntad no se identifica con el acto y con la necesidad del acto, hay un refrán español que yo no me sé muy bien pero que dice algo así: «el preso ama los barrotes de la cárcel», es decir, se puede estar preso necesariamente y después estar libremente en la cárcel, es decir, queriéndolo o no queriéndolo, hasta tal punto llega esto que en la teología medieval nunca se contrapuso necesario o libre. Necesario y libre no son dos términos que se contrapongan; en la teología medieval se contrapone necesario a contingente, pero lo necesario puede ser además libre porque la libertad es una cualidad que nada tiene que ver con la

necesidad, por ejemplo, de Dios se dice que es necesario, los actos que Dios quiere son necesarios y, sin embargo, son eminentemente libres. ¿Por qué quiero decir esto?, porque a mí me parece, en fin, que todos esos potenciales que indudablemente existen en el cerebro y otros más, pues sí, que se puede dar el sofisma «post hoc ergo propter hoc», es decir, si existen estos potenciales ésta es la causa del acto que llamamos libres, ¿o no? Porque no, porque esto de la libertad es una cualidad que no sabemos explicar, lo que sabemos es describirla, explicarla no, es decir, nadie ha sabido demostrar cuál es el mecanismo porque se producen estos actos o esas, como usted decía, sensaciones o sentimientos; yo no creo que sean sentimientos exactamente, es decir, es más bien una actividad interna; es lo que los griegos llaman una «praxis», a diferencia de un acto que es la «poiesis», la creación. Entonces, yo puedo estar haciendo un acto y, sin embargo, puedo tener la sensación, no sólo la sensación sino mi actividad interna ser la de querer aquello, querer libremente aquello que tengo que hacer de modo necesario; esto, vuelvo a repetir, está en toda la tradición y que yo creo deja el problema donde estaba al principio, y el problema en la libertad, como en el tema de la inteligencia, está en que conocemos muchos factores que condicionan y probablemente determinan el acto inteligente del acto libre, pero no somos capaces, ni probablemente lo vamos a ser nunca, de poder decir: estos factores son lo que está dando lugar, una cualidad absolutamente peculiar que tiene el ser humano y que curiosamente no tiene nadie más, que es la cualidad de poder elegir, porque eso es el libre arbitrio, es el llegar a un cruce de carreteras y decir: me voy por la derecha y no me voy por la izquierda; ése es el libre arbitrio y no es otra cosa y el problema de la libertad descrito en filosofía. Por eso tiene tanta importancia ética, porque si efectivamente podemos irnos por la derecha o por la izquierda entonces somos responsables de haber tomado la derecha o la izquierda, por muchos condicionantes que tengamos, aunque tengamos una pistola detrás, es decir, tendremos que responder de la decisión que hemos tomado.

Prof. Rodríguez Rodríguez

Bueno, naturalmente, después de estas palabras uno no puede por menos de recordar alguna otra cosa que hablaba precisamente

en este salón una vez diciendo que tal vez es distinta la motilidad que la motricidad; la motilidad es la expresión final de la motricidad. Pondría un ejemplo, como decía anteriormente, para ver si así puedo expresarme en menos tiempo y más resumido: un portero de un equipo de fútbol normalmente intenta parar un balón haciendo una realización, una motilidad antes de que se haya producido un estímulo, es el portero que se dice está bien situado que está bien colocado y entonces realiza el movimiento, y entonces chuta, dispara el jugador del equipo contrario. ¿Por qué ha hecho ese movimiento, antes de recibir el estímulo? Porque está entrenado, como he dicho anteriormente en los atletas, que se entrenan pero probablemente ese movimiento se puede reflejar antes de desarrollarse la motilidad, es decir, la motricidad es algo que el resultado final es la motilidad, y por eso muchas veces no sé si realmente lo que se habla es de motricidad y no de libertad o de libre albedrío; es algo a lo que yo me quisiera referir y es cierto lo que he dicho y estoy totalmente de acuerdo, porque algunos atletas cuando se les entrena en motilidad como a Manolo Martín, cuando se le determina el arco del movimiento o el momento de la fuerza, cómo tiene que colocarse para que consiga la medalla de oro y, por lo tanto, más distancia con el peso, es distinto totalmente que cuando se entrena la acción y reacción a un estímulo, a una salida en una carrera, y entonces no se entrena naturalmente la colocación, lo que se entrena es sencillamente la captación, la motricidad para que salga; entonces estoy tan de acuerdo con lo que se ha dicho que hay cosas distintas en las que a mí por lo menos se me escapa que es la libertad. Yo también estoy de acuerdo en una cosa que se ha dicho, es decir, que tal vez estamos muy condicionados; la libertad está programada en cosas programadas anteriormente; se evoluciona en libertad, pues de algunas cosas tenemos más posibilidad de libre albedrío y de otras muy pocas, aunque creamos que lo hacemos en libertad.

Felicidades totales.

Prof. Poch Broto

Yo de esto ya les confieso que no sé absolutamente nada, de estas cosas de la libertad; uno hace en la vida lo que puede. De todas formas, claro, asociar la libertad a la abolición con pre-programas mo-

tores no parece que sea lo más adecuado, ni tampoco hacer asociaciones con movimientos automatizados que todos sabemos que se desplazan a núcleos grises de la base. Viene, sin embargo, muy a cuento un síndrome de la región fronto-medial del lóbulo temporal; efectivamente, existen alteraciones volitivas y cuando existe una alteración posterior que se acerca al surco todavía son mayores y hay casos descritos de procesos tumorales donde lo que existe es un trastorno emocional grave donde el enfermo conserva toda su capacidad cognitiva y, sin embargo, a lo largo de su vida es incapaz de adoptar una decisión acertada, sencillamente cuando lo observa el médico de la impresión de que no tenga ganas de, y hay incluso pacientes estrellas bien documentados en la historia de la medicina al respecto. De esta forma, no era esto lo que yo quería preguntar; lo que quiero preguntarte es que no estoy seguro de si, hablando de sistemas biológicos, al final el ser humano es un complejo biológico muy complejo, si se puede hablar de libertad o no libertad. Yo estoy quizá más acostumbrado a hablar, relativizar el término, y a hablar de grados de libertad en relación con determinados actos y con determinados objetivos, es decir, quizás es éste el problema que científicamente se debería discutir. Luego, yo también quería preguntar, al margen de esto, si realmente disponemos de datos objetivos y, sobre todo, de una cierta teoría holística que sea capaz realmente de abordar un problema tan complejo como éste de la abolición o de la libertad. Son los dos temas que me gustaría que se me aclarasen.

Prof. Rey Calero

Después de la conferencia de hoy, uno queda realmente entusiasmado o anonadado por la belleza de la primera y la filosofía de la segunda. En realidad, pues, «Denken ist danken», como dice Heidegger, nos han hecho pensar y hay que agradecerlo. Uno se queda un poco perplejo de que si todo viene como en la película esa, «Matrix», entonces estamos moviéndonos por una serie de sensaciones que vienen de fuera como si fuéramos una especie de movimientos automatizados en una especie de cibernética virtual que nos está moviendo en un mundo raro.

Pero, en realidad, sabemos que si podemos elegir es que indiscutiblemente podemos ser responsables de nuestros actos y de nuestras acciones.

En definitiva, es como si estuviéramos en un tablero de ajedrez donde a la vez somos piezas, pero también somos jugadores; es decir, que en cierto modo podemos predeterminedar lo que podemos hacer moviendo esta ficha y cambiando de sitio nuestra pieza. En definitiva, como dice la célebre frase de Lessing: «die Tat ist frei, die Folge nicht», es decir, nuestra acción es libre, pero la consecuencia de esta acción no lo es ya; o sea, que nosotros, una vez que nos empleamos en una dirección, pues lo que venga detrás es algo que primitivamente fue querido aunque lo quisiéramos parar, como nos decía muy bien el Profesor Gracia.

El libre albedrío posee una cualidad y posee también una calidad; posee una cualidad en la capacidad de escoger o no escoger, pero posee también una calidad en la capacidad que tiene el hombre como cuando conduce un automóvil al cambiar de rumbo o frenar.

Entonces, con todas estas cuestiones, vemos que la vida humana es mucho más compleja.

Yo estaba recordando, cuando estaba diciendo toda esa evolución, un poco lo que se planteó cuando la Reforma y la Contrarreforma, en los años 1550 o 1560, donde prácticamente las ponencias del ala se definían como el entendimiento y la voluntad, y luego ya saben ustedes que se introdujo la inteligencia para conocer, el afecto para sentir y la voluntad para escoger; tanto es así, que Zubiri mismo habla de inteligencia sintiente, es decir, de algo que nos motiva a ese sentimiento; en definitiva, creo que ha sido una bella exposición la que nos acaba de decir, que nos plantea aquella expresión que decía Goethe cuando «nuestra vida surge del conflicto entre la esperanza y la necesidad»; yo recuerdo a esos chavales americanos cuando se ponían esas camisetas en negro sobre blanco, cuando decía: «No Future»; en fin, no hay futuro para nosotros, es que estaban desesperanzados, no existía en ellos, vamos es una postura, no existe en ellos esperanza. Indiscutiblemente, si nosotros negamos el libre albedrío, pues tendríamos que negar un poco la esperanza de escoger y, en definitiva, recuerden que nuestro Cervantes decía: «Tú mismo te has forjado tu propia aventura»; yo creo que, como todos sabemos, cuando movemos una pieza de nuestro ajedrez estamos labrando nuestra propia aventura.

CONTESTACIONES DEL PROF. RUBIA VILA

Al Prof. Sánchez García

Al Prof. Sánchez tengo que decirle que estoy convencido de que él sabe también que los medicamentos pueden afectar a la voluntad, y así lo hacen, de la misma manera que lesiones cerebrales también la afectan, como se ha dicho también a lo largo de esta discusión. Precisamente, el Profesor Poch hablaba de los trastornos emocionales que afectan a la voluntad. Recientemente, en el libro de Antonio Damasio, un libro muy reciente —Damasio es un investigador portugués muy conocido, afincado en Iowa, en Estados Unidos—, tenía un paciente que le llamó Elliot, que tenía una lesión en el sistema límbico, el sistema de los afectos, y era un paciente que era incapaz de elegir, de tomar una decisión; no podía tomarla. Y él interpreta estos resultados, que estarían de acuerdo con esta interpretación de que para tomar una decisión necesitamos el sistema de afectos y de sentimientos, que es un sistema mucho más antiguo en el cerebro y que es un sistema totalmente inconsciente. En el momento en el que lo lesionamos se acaba la capacidad electiva del individuo, de la misma forma que desaparecen también las consideraciones morales. En este enfermo, y en el enfermo del siglo XIX célebre en la historia de la neurología, Phineas Gage, en Estados Unidos, fue también una lesión por un accidente en el lóbulo frontal y se transformó totalmente de personalidad, una personalidad incapaz de llevar nada a término, incapaz de tomar decisiones, incapaz de tratar a la gente con consideración y, además, totalmente desinhibido social y sexualmente. Una transformación de la personalidad como refleja Stevenson en su célebre novela *Dr. Jekyll y Mister Hyde*. Es decir, lo que no he dicho es que la interpretación de estos resultados nos dice que mucho antes de que surja la voluntad subjetiva en el individuo, el sistema límbico ya ha empezado a activarse y es el que lleva la iniciativa en este asunto. Y el problema es que el sistema límbico no es consciente para el ser humano, es decir, queramos o no, existe una actividad previa, y con esto le respondo también a la intervención del Prof. Diego Gracia; los experimentos son como son, las interpretaciones están al arbitrio del que interpreta los resultados, pero el experimento es como es. Yo, cada vez que hago un acto voluntario, tengo un movimiento mucho después de que surja en el cerebro una

actividad, con una distancia en el tiempo enorme que es casi de un segundo, una actividad cerebral que no es consciente; esto significa que esa actividad cerebral está antes de la sensación subjetiva de la voluntad, y eso se produce siempre. Esto no es discutible. Ahora se podrá decir: eso es una interpretación, resulta que la actividad en el sistema límbico, la actividad en el lóbulo frontal no tiene nada que ver con el movimiento que se va a realizar después, pero es que se produce siempre, siempre que haya un movimiento voluntario; luego, lo lógico es que se concluya que hay una actividad inconsciente previa a la consciencia. Y esto es lo que yo quería explicar.

Al Prof. Segovia de Arana

El Prof. Segovia dice que si la voluntad está anclada en la memoria ancestral. Yo no lo sé, lo que sí desde luego sé es que la evolución cultural nos ha hecho creer que cuando hacemos un acto voluntario somos dueños de esos actos y los hacemos conscientemente con nuestra voluntad consciente. Lo que he tratado de decir a lo largo de esta conferencia es que eso no es cierto, por lo menos de acuerdo con los resultados que tenemos hoy en la neurofisiología. Eso no es cierto. La voluntad consciente es consecuencia de otra cosa que no es consciente, y yo lo siento porque yo mismo tengo la sensación que tienen ustedes, de ser completamente libre y de elegir cuando llego a una carretera, como decía el Prof. García, de elegir ir hacia la izquierda o hacia la derecha. Lo que no sé es lo que me ha movido a tomar la dirección de la izquierda o de la derecha, porque puede haber miles de causas inconscientes que me han llevado a tomar esa decisión. Y el cerebro asume que esa decisión la ha tomado la consciencia, el yo consciente. Pero estos experimentos están diciendo que no es cierto, que el cerebro interpreta, y me parece que en otra conferencia ya he dicho que el cerebro interpreta muchas veces cosas que no son ciertas y, por tanto, hay que tener mucho cuidado con él. Yo siempre he puesto el acento en que lo que más me molesta es que nos engañemos a nosotros mismos y lo que ha molestado a muchos investigadores antes que a mí es precisamente eso: que tenemos una capacidad infinita de engañarnos a nosotros mismos y que, por lo tanto, hay que ir con muchísimo cuidado cuando interpretamos los resultados

de nuestra investigación y cuando interpretamos sobre todo lo que sentimos subjetivamente. Este caso es otro ejemplo.

Al Prof. Pérez Pérez

El Prof. Pérez Pérez también dice que la voluntad es un proceso evolutivo. Yo creo que estoy más de acuerdo con el Prof. Segovia de que desde luego la sensación subjetiva de la voluntad sin duda es un proceso cultural que el niño no la tiene, evidentemente. Por tanto, lo aprende a lo largo de su vida. El niño se mueve instintivamente como ha dicho el Prof. Pérez, pero lo que ocurre es que cuando el Prof. Pérez habla de que la voluntad domina al instinto está hablando de otra cosa distinta, está hablando de la capacidad inhibitoria que tiene el cerebro de inhibir los instintos; eso es también cualidad del lóbulo frontal, y tiene esa capacidad sin duda; y eso es lo que nos permite tener más grados de libertad, con lo cual estoy completamente de acuerdo con lo que ha dicho el Prof. Poch, que no es que tengamos libertad, es que cuando hablamos de libertad absolutizamos y pensamos que somos absolutamente libres. Somos más libres que los animales que nos han precedido porque tenemos más grados de libertad, porque tenemos una mayor capacidad de inhibición de los instintos de la que tiene el animal. Y, volviendo al Prof. Félix Pérez, cuando la ardilla baja y tiene un comportamiento altruista con sus crías, nosotros interpretamos que está produciendo una serie de afectos muy parecidos a los nuestros; grave equivocación; yo, desde luego, no lo sé porque nunca le he preguntado a una ardilla y si le pregunto sé que no me va a contestar. Lo único que puedo decir es que la ardilla tiene un cerebro que no es el nuestro y no estoy seguro que los sentimientos de la ardilla tengan la cualidad que los nuestros tienen. El altruismo recíproco se encuentra en los animales, en muchísimos animales, mamíferos y no mamíferos. Y eso se interpreta como unos principios de moral que están en los animales. Yo creo que eso es antropomorfismo puro y duro y, por tanto, yo no creo que la ardilla tenga esos sentimientos que nosotros interpretamos, que muchas veces son completamente equivocados, como por ejemplo cuando decimos que el perro está triste porque tiene las cejas colocadas en una determinada posición, o que la lechuza se está fijando mucho porque tiene los ojos muy abiertos. Todo esto son interpretaciones del com-

portamiento animal que hay que ir con mucho cuidado porque nunca podemos realmente saber si lo que decimos es cierto o no.

Al Prof. Gracia Guillén

Yo creo que el Prof. Gracia me ha interpretado en cierto modo mal; yo no he hablado de la libertad del preso que está encerrado en una jaula o en una prisión. Desde luego, desde el punto de vista de la ελευθερία de los griegos, de libertad, de no esclavitud, evidentemente ese hombre no es libre, pero yo no creo que yo haya hablado de ese tipo de libertad. Lo dije al principio: hay muchas concepciones de la libertad y yo sólo me iba a referir al acto voluntario y, por tanto, sólo he hablado de él. Tampoco estaría de acuerdo en que nunca vamos a ser capaces de averiguar dónde están las bases neurales de la voluntad, o de la consciencia, o de la inteligencia, pero yo creo que cada vez nos acercamos más. Hace algunos años esto sería imposible, que estudiásemos la consciencia, la inteligencia, la voluntad; desde el punto de vista neurofisiológico todos estos conceptos no dicen nada, pero lo que sí es cierto es que ahora lo estamos estudiando y cada vez nos acercamos más a una determinada explicación. El problema es que muchos de los resultados, y aquí me refiero a la intervención del Prof. del Rey Calero, que si somos robots como en la película «Matrix», sé que es una sensación muy desagradable ser un robot o una marioneta movida por hilos extraños; lo único que sé es que en la investigación hay resultados que nos agradan y otros que nos desagradan, hay resultados agradables y otros desagradables; lo que no podemos es restringirnos simplemente a aceptar los resultados que nos agradan, habrá que aceptar alguno que no nos satisface. Y yo creo que éstos no nos satisfacen en absoluto. Pensar simplemente que la voluntad o, mejor dicho, el acto voluntario motor no se debe a nuestra voluntad, pues es muy desagradable, porque las implicaciones pueden ser terribles. Imagínense que se me ocurriese sacar la conclusión que hay que liberar a todos los presos porque no son responsables de sus actos; sería una locura. Luego, por tanto, a lo mejor desde el punto de vista social es necesario que sigamos creyendo que los actos voluntarios son realmente voluntarios.

Al Prof. Rodríguez Rodríguez

Respecto a la intervención del Prof. Luis Pablo Rodríguez, creo que entre motilidad y motricidad yo sólo he entendido que para él motilidad es la anticipación del movimiento, lo cual es una realidad. El deportista, pero no solamente el deportista, cualquier persona, cuando bajan una escalera, si se cree que hay cinco escalones y solamente hay cuatro, se pega un susto de muerte, porque está anticipando toda la actividad muscular preparatoria para los cinco escalones. Como no hay más que cuatro, al final el susto es moral, porque el resultado no coincide con la anticipación. Esta capacidad anticipatoria que el ser humano tiene en gran cantidad con respecto a otros animales, es la que nos permite, como he dicho, realizar movimientos mucho más rápidos en los atletas. Yo, sobre Manolo Martín, no me puedo extender porque no sé quién es.

Al Prof. Poch Broto

Efectivamente, en el síndrome del lóbulo frontal, sobre todo cuando se lesiona el área órbito-frontal que controla al sistema límbico, lo que ocurre no es sólo un aplanamiento afectivo del paciente, sino también la incapacidad de tomar decisiones, como ha mostrado claramente Antonio Damasio en Estados Unidos, concluyendo que los sentimientos y afectos son imprescindibles también para las funciones cognitivas. Respecto a la existencia de diferentes grados de libertad, estoy de acuerdo; es precisamente lo que nos separa de otros animales. Desde luego, no disponemos de ninguna teoría que pueda explicar estos fenómenos de forma definitiva y global.

Al Prof. Rey Calero

Con respecto, finalmente, al Prof. del Rey Calero, yo creo que la voluntad para escoger, que se ha repetido también en muchos de los que han intervenido, repito, si resulta que es un acto voluntario en donde tengo que decidir: «voy para allá o vengo para acá», ese acto voluntario estará precedido siempre —y el que quiera que vaya a registrarlo, que venga al Instituto y lo registramos con electrodos en la superficie de la cabeza—, está precedido por una actividad cere-

bral de la que no somos conscientes, y que probablemente procede del sistema límbico, sistema de emociones y sentimientos, que envía la información al lóbulo frontal y de allí a la corteza motora para que el acto motor se realice. Y eso siempre es así. Siempre es así. Repito: esos son los resultados. La interpretación es cosa distinta. Ahora bien: yo creo que es muy difícil interpretar otra cosa si cada vez que hacemos un acto motor resulta que la sensación subjetiva tarda por lo menos entre 600-800 milisegundos en llegar al sujeto. Luego, realmente esa sensación subjetiva, que a lo mejor no es la voluntad, yo no lo sé, porque voluntad vaya usted a saber lo que es, esa sensación subjetiva sin duda no es la causa del movimiento. Esto está claro. Si se repite una y otra vez en todos los laboratorios del mundo, a eso le llamamos ciencia; ahora bien, la interpretación depende de cada uno, y con esto quisiera terminar.

PALABRAS FINALES DEL VICEPRESIDENTE, PROF. ESPINÓS PÉREZ

El Prof. Rubia nos ha expuesto, como siempre, unos temas de un calado verdaderamente profundísimo; es una conferencia que hay que leer detenidamente. El libre albedrío es una cualidad característica del ser humano. Recuerdo una frase leída en un libro de psicología que dice que a los animales la naturaleza les determina la vida y les determina y les fuerza a hacer lo que tienen que hacer; al hombre la naturaleza les determina la vida, pero no determina la manera de cómo tienen que vivir. La libertad es algo tan importante, la capacidad de decisión es una cualidad tan importante del ser humano que hace que naturalmente nos separemos de los animales.

Yo no puedo evitar que como médico clínico tenga que subrayar que la libertad, el tener que decidir, todos lo sabemos, es causa de enfermedad. Muchas veces vemos a pacientes que están enfermos porque han estado obligados a decidir y esa decisión ha representado mucho para ellos. Me han fascinado los aspectos fisiológicos de las actividades neuronales, etc..., me parece interesantísimo, pero la idea que yo tengo como hombre y como médico clínico, es que la libertad es una cualidad muy humana y es un factor de enfermedad y es lo que tenemos que tener muy en cuenta.

Le felicito por un tema de gran profundidad.

Se levanta la sesión.

XIV SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 27 DE MAYO DE 2003

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

**ASPECTOS MOLECULARES DE UN SISTEMA
SENSOR DE GLUCOSA HIPOTALÁMICO Y SUS
IMPLICACIONES EN EL CONTROL DE LA INGESTA
DE ALIMENTOS**

***MOLECULAR ASPECTS OF A HYPOTHALAMIC
GLUCOSE SENSOR SYSTEM AND THEIR
IMPLICATIONS IN THE CONTROL OF FOOD
INTAKE***

Por el Excmo. Sr. D. ENRIQUE BLÁZQUEZ FERNÁNDEZ

Académico de Número

**DOS ESCUELAS DE CIRUGÍA: MADRID
Y BARCELONA. RIBERA SANS Y SALVADOR
CARDENAL (SESQUICENTENARIO)**

***TWO SURGERY SCHOOLS: MADRID
AND BARCELONA. RIBERA SANS AND SALVADOR
CARDENAL (150TH ANIVERSARY OF THEIR BIRTH)***

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

Académico Correspondiente

ASPECTOS MOLECULARES DE UN SISTEMA SENSOR DE GLUCOSA HIPOTALÁMICO Y SUS IMPLICACIONES EN EL CONTROL DE LA INGESTA DE ALIMENTOS

MOLECULAR ASPECTS OF A HYPOTHALAMIC GLUCOSE SENSOR SYSTEM AND THEIR IMPLICATIONS IN THE CONTROL OF FOOD INTAKE

Por el Excmo. Sr. D. ENRIQUE BLÁZQUEZ FERNÁNDEZ

Académico de Número

Resumen

La glucosa es utilizada por las células fundamentalmente como un substrato energético pero también como una molécula de señalización implicada en procesos de gran importancia funcional, tales como los sistemas sensores. La isoforma del transportador de glucosa GLUT-2 y especialmente la glucoquinasa (GK) han sido considerados como componentes de un sistema sensor de glucosa, que controla varios procesos claves como la secreción de insulina dependiente de glucosa, la estimulación de la captación de glucosa por el hígado y músculo esquelético. De la misma forma este sistema podría modular la conducta alimenticia, y la liberación de las hormonas contrareguladoras en respuesta a estados de hipoglucemia. Nuestros resultados indican que los ARN mensajeros y proteínas codificadas por GLUT-2 y GK se coexpresan principalmente en células de hipotálamo de humanos y animales de experimentación, en áreas responsables del control de la ingesta de alimentos. También hemos encontrado una actividad fosforilante de la glucosa con una alta K_m y con propiedades cinéticas semejantes a las descritas previamente en hígado, que no fue inhibida por glucosa-6-fosfato. La actividad de la GK puede también ser regulada por la presencia de una proteína reguladora de glucoquinasa (GKRP), la cual hemos identificado en cerebro en las mismas áreas que la GK. La coexpresión de GLUT-2, GK y GKRP en áreas implicadas en el control de la ingesta, podrían jugar un papel como sensores de glucosa, en los que GLUT-2 puede tener un papel permisivo y las interacciones de GK con GKRP desem-

peñan una auténtica actividad sensora de glucosa. Además el papel de los péptidos anorexígenos a través de sus receptores en este sistema podrían facilitar la transducción de señales requerida para producir un estado de saciedad.

Abstract

Glucose is used mainly as an energy substrate but also as a signalling molecule implied in processes of primary functional concern, such as glucose sensing. Glucose transporter isoform GLUT-2 and especially glucokinase (GK) have been considered as components of a glucose sensor system controlling several key processes such as , glucose-dependent insulin secretion, and stimulation of glucose uptake by liver and skeletal muscle. In the same way this system might modulate feeding behavior and the release of counterregulatory hormones that defend against hypoglycemia. Our findings indicate that GLUT-2 and GK mRNAs and proteins are coexpressed mainly in the hypothalamus of human and experimental animals, in areas implied in the control of food intake. Also, a high K_m glucose phosphorylating activity with kinetic properties similar to that reported previously in liver was observed, with a high apparent K_m for glucose that displays no product inhibition by glucose-6-phosphate. GK activity may also be regulated by the presence of glucokinase regulatory protein (GKRP), which we have found in the brain of human and experimental animals, in the same areas than GK. . Coexpression of GLUT-2, GK and GKRP in areas implied in feeding behavior might play a role in glucose sensing, in which GLUT-2 has a permissive role and the interactions of GK with GKRP made possible a real sensor activity. Furthermore the effects of anorexigenic peptides through its receptors in this system, should facilitate the transduction of signals required to produce a state of satiety.

INTRODUCCIÓN

Los mecanismos glucoreguladores son de vital importancia dado que aseguran el suministro continuado de glucosa al sistema nervioso central, y los aportes energéticos necesarios para el funcionamiento de los tejidos periféricos.

Las concentraciones de glucosa circulante se mantienen dentro de un rango fisiológico dependiendo del estado nutritivo del individuo, gracias a los efectos antagónicos de las hormonas pancreáticas insulina y glucagón, las actividades del eje hipotálamo-hipofisario-adrenal y los componentes del sistema nervioso autónomo. Modificaciones de los valores normoglucémicos tienen consecuencias deletéreas que aumentan los porcentajes de morbilidad y mortalidad de la población. De esta forma la glucosa es necesaria como un substrato energético, pero en los últimos años se ha conocido que también puede actuar como una molécula señalizadora, que interac-

túa con sistemas sensores generadores de los mecanismos necesarios para mantener su propia homeostasis.

Los sensores de glucosa son diseños moleculares que de una forma precisa detectan cambios en la concentración de glucosa en el espacio extracelular. La primera referencia sobre la existencia de un sistema sensor de glucosa fue descrita en las células pancreáticas β (1), constituido por la isoforma del transportador de glucosa GLUT-2 y por la glucoquinasa (GK). Estas proteínas están implicadas respectivamente en el transporte y fosforilación de glucosa con alta Km, lo cual permite aumentar la utilización de glucosa proporcionalmente al incremento de ésta. Las células β valoran la concentración de glucosa a través de los productos de su oxidación, de forma que el catabolismo de la glucosa debe ser proporcional a la concentración de glucosa en el espacio extracelular. La actividad de GLUT-2 juega un papel permisivo pero no es determinante como sensor, ya que el transporte de glucosa en las células β es 100 veces más elevada que el metabolismo de esta hexosa. En contraste con ello la glucoquinasa actúa como auténtico sensor de glucosa, ya que cataliza el paso limitante en el catabolismo de la glucosa, y con ello su oxidación y la formación de ATP. Todo ello aumenta el cociente ATP/ADP favorecedor del cierre de los canales de potasio sensibles a ATP y la depolarización de las células β , que causan la apertura de los canales de calcio dependientes de voltaje. Este hecho produce un aumento de calcio intracelular necesario para la secreción de los gránulos de insulina por exocitosis.

Otro sistema sensor de glucosa está localizado en la vena porta en la porción superior del hilio hepático conectado mediante las ramas hepáticas aferentes del nervio vago a neuronas sensoras de glucosa en el hipotálamo lateral y en el núcleo del tracto solitario. Este sensor hepatoportal de glucosa (2) constituido por GLUT-2 y los receptores de GLP-1 y somatostatina requiere para ser activado un gradiente de concentración porto-arterial positivo de glucosa para controlar varias funciones tales como, la estimulación de la captación hepática de glucosa y la utilización de ésta por el músculo esquelético, así como las descargas del nervio vago.

Asimismo la GK está presente en las células L intestinales (3) y podría jugar un papel importante como sensor de glucosa en la secreción de GLP-1 dependiente de glucosa, el cual es el factor incretina más potente dentro del eje entero-insular.

SISTEMA SENSOR DE GLUCOSA HIPOTALÁMICO

Con anterioridad hemos descrito que los genes de GLUT-2, GK y el receptor de GLP-1 se coexpresan en neuronas de hipotálamo de rata (4-6) y humanos (7), localizadas en áreas especializadas en la regulación de la ingesta de alimentos, homeostasis energética y sistema nervioso autónomo. Esta coexpresión podría ser indicativa de la existencia de un sistema sensor de glucosa relacionado con el control de los estados de plenitud o saciedad. De esta forma el aumento de la glucemia después de las comidas puede ser reconocida por estas neuronas hipotalámicas, dada la baja afinidad de GLUT-2 y GK por la glucosa manifestada por altas Km, mientras que la mayor producción de ATP generada por la oxidación de la glucosa facilitaría la transducción de señales necesarias para generar una sensación de saciedad. Estos procesos se pueden producir en dos clases de neuronas sensoras de glucosa (8, 9). Una de ellas (GR) con respuesta positiva a la glucosa, está presente en el 40 % del núcleo ventromedial del hipotálamo (VMN) y en el sistema nervioso entérico, es excitada por la elevación de la concentración de glucosa con un patrón de descargas característico. Un comportamiento electrofisiológico similar ha sido encontrado en las células pancreáticas β . Otra clase de neuronas sensibles a la glucosa (GS) constituyen el 30 % del área lateral hipotalámica (HLA), y son excitadas por la disminución de la glucosa en el medio extracelular. Las similitudes entre estos dos tipos de neuronas y las células endocrinas pancreáticas son también evidentes por la presencia de canales de K^+ATP que contribuyen a la despolarización (10) de estas células. Cuando las neuronas GR son expuestas a elevadas concentraciones de glucosa, la activación de la GK produce un incremento del cociente ATP/ADP, y entonces el canal de K^+ATP compuesto por la subunidad Kir 6. $2K^+$ formadora del poro y el receptor de las sulfonilureas es inactivado, lo que produce una despolarización (11) de la membrana. Esto a su vez causa una entrada de calcio a través de la activación de los canales de calcio dependientes de voltaje. Aunque la distribución de los canales de K^+ATP es muy amplia sólo áreas selectivas de este órgano muestran propiedades sensoras de glucosa, lo cual es posible gracias a la actividad de la GK (12). Esta enzima está presente en las células GR, que aumentan la expresión de c-fos tras la administración de glucosa intracarotídea, y también en las neuronas GS donde la hipoglucemia induce la expresión de c-fos (13). Asimismo cuando disminuyen las concen-

traciones de glucosa, las oscilaciones de calcio aumentan en las células GS, pero se reducen en las neuronas GR. El uso de inhibidores de la GK sugiere que las neuronas GR son inactivadas por un descenso del cociente ATP/ADP y activación del canal K^+ ATP, mientras que las células GS pueden ser activadas a 2, 5 mmol/l de glucosa en un proceso que podría estar mediado por un canal de K^+ ATP, por una bomba $Na^+ K^+ -ATP$ o por un canal de cloruro. Estas observaciones se ven reforzadas por la aumentada expresión de GK en estados con alteraciones del sistema sensor de glucosa, como en la obesidad y en períodos post-hipoglucemia (13).

También hemos encontrado en hipotálamo una actividad fosforilante de la glucosa con propiedades cinéticas semejantes a las descritas previamente para la GK de origen hepático o de los islotes pancreáticos, y por tanto con una alta K_m para la glucosa y carente de efecto inhibitor por la glucosa-6-fosfato. La actividad GK puede también ser regulada por la acción de la proteína reguladora de la glucoquinasa (GKRP), la cual en presencia de fructosa-6-fosfato se une a GK e inhibe su actividad, mientras que la fructosa-1-fosfato impide la formación del complejo. En hígado la translocación transcelular de la GK regula la actividad enzimática de acuerdo con las necesidades metabólicas de las células. En condiciones basales tanto la GK como la GKRP están unidas en el núcleo, pero en el estado post-prandrial cuando la glucosa y fructosa circulantes aumentan, la GK liberada desde la GKRP permanece libre en el citoplasma disponible para fosforilar la glucosa. Estos hallazgos indican que la GKRP actúa como un inhibidor alostérico de la GK y como un sensor metabólico a la vez que se puede considerar como una chaperona nuclear que une y transporta la GK al núcleo. La expresión del gen de la GKRP en cerebro de ratas y humanos (7, 14-15) permite la formación de una proteína de 69 kDa, con una característica distribución subcelular y capacidad de respuesta a los ésteres de fructosa. Asimismo su probada interacción con GK sugiere que ambas proteínas pueden jugar en cerebro un papel semejante al que desarrollan en hígado.

CONDUCTA ALIMENTICIA Y NEUROPEPTIDOS

Las primeras sugerencias indicativas de que el hipotálamo juega un papel importante sobre la conducta alimenticia y la homeos-

tasis energética fueron obtenidas hace sesenta años después de los estudios de estimulación y lesiones en el cerebro. Fundamentados en que la estimulación eléctrica del VMN del hipotálamo suprime la ingesta de alimentos, y que las lesiones bilaterales de estas estructuras inducen hiperplasia y obesidad, al VMN se le denominó «centro de la saciedad». En contraste con ello las alteraciones del LHA produjeron efectos contrarios, por lo cual se la denominó «centro del hambre». También otros centros están implicados, tales como la médula oblongata, el núcleo del tracto solitario (NTS) y el núcleo motor del vago. Estas áreas cerebrales usan estructuras del sistema nervioso autónomo para modular la homeostasis de la glucosa en hígado y la secreción del páncreas endocrino, a la vez que estas regiones pueden alterarse por señales metabólicas que modifican la actividad eléctrica de neuronas por la aplicación directa de glucosa o por cambios de la glucemia. De hecho la glucosa tiene un efecto excitador en VMN e inhibidor en LHA y NTS, lo que sugiere la presencia de sensores de glucosa en estas áreas cerebrales. Actualmente sabemos que en los denominados «centros del hambre y la saciedad» existen poblaciones de células que constituyen rutas neuronales con péptidos orexígenos y anorexígenos, capaces de generar respuestas integradas ante estímulos aferentes relacionados con modificaciones de metabolitos o en el almacenamiento de nutrientes endógenos.

Varias hormonas peptídicas que previamente se consideraron componentes del sistema gastroenteropancreático y más tarde fueron también localizadas en cerebro, han mostrado que controlan el apetito, energía metabólica y peso corporal. Estos péptidos reguladores participan en determinados procesos fisiológicos junto con otros neuropéptidos, tales como neuropéptido Y, péptidos opiodes, galanina, vasopresina y GHRH entre otros. De esta forma la conducta alimenticia está en parte condicionada por los efectos antagónicos de los péptidos orexígenos y anorexígenos. Se cree que las células de varios núcleos hipotalámicos detectan señales de saciedad procedentes de la periferia, y que transmiten esta información a otras áreas cerebrales. Los péptidos orexígenos y anorexígenos localizados en los núcleos VMN, PVN, LHA y arqueado interactúan unos con otros de forma que pueden inducir una conducta alimenticia específica. Así el péptido YY_{3-36} es liberado desde el tracto digestivo post-prandialmente y actúa sobre receptores $NPY Y_2$ en el núcleo arqueado para inhibir la ingesta de alimentos durante un

período de tiempo prolongado (16). Otras señales generadoras de saciedad pueden ser inducidas por GLP-1 (4-6, 17) , GLP-2 (18) y CCK por períodos más cortos de tiempo, mientras que la insulina y leptina (19) inhiben el apetito aumentando la formación de POMC y reduciendo la acción de NPY. Por otra parte la grelina, un péptido liberado por el estómago antes de las comidas es capaz de potenciar la acción de NPY. Los péptidos GLP-1 y GLP-2 modifican sensiblemente la conducta alimenticia. La administración intracerebroventricular (icv) y subcutánea (sc) de GLP-1 (7-36) amida produce una marcada reducción (4-7, 17) de la ingesta de alimentos y agua. La exendina-4 que es un potente agonista del GLP-1, también tiene un efecto reductor aunque de mayor actividad, mientras que el pretratamiento con exendina (9-39) evita los efectos inhibidores de ambos péptidos

La utilidad de la administración periférica o central de los agonistas del receptor de GLP-1 en la regulación del control de la ingesta de alimentos, ha sido estudiada en ratas Zucker obesas y resistentes a la acción de la insulina. Tanto la la administración sc o icv de GLP-1 (7-36) amida o exendina-4 produjo una disminución en la toma de alimentos, con un efecto más potente de la exendina-4 especialmente por vía subcutánea (6). Asimismo la administración crónica de exendina-4 disminuyó la ingesta diaria de alimentos y la ganancia de peso en las ratas obesas. Estas observaciones indican la utilidad potencial de la exendina-4 o de sus análogos estructurales en el tratamiento de la obesidad y/o diabetes. Esta sugerencia está fundamentada en que ambos agonistas regulan la glucemia, a través de la secreción de insulina dependiente de glucosa, y la inhibición de la secreción de glucagón y vaciamiento gástrico. Acciones que podrían verse reforzadas por los efectos semejantes a la insulina descritos para ambos péptidos.

NEUROPEPTIDOS, SISTEMA SENSOR DE GLUCOSA Y CONTROL DE LA INGESTA DE ALIMENTOS

Aunque las concentraciones de glucosa circulante en condiciones basales es de 5 mM, estos valores en el líquido intersticial del cerebro descienden a 2mM, lo cual explica que cuando los valores de glucemia oscilan entre 2 y 15 mM los valores de glucosa en cerebro sólo varían entre 0, 15 y 4, 5 mM. Estos hechos explican que

en cerebro la isoforma del transportador de glucosa GLUT-3 y la enzima fosforilante de glucosa hexoquinasa I (HK-1), sean las más abundantes y suficientes para garantizar la formación de una cantidad de ATP adecuada para mantener las funciones celulares en condiciones basales, a pesar que la HK-1 tiene una baja Km y se satura a menos de 2 mM de glucosa. Por otra parte las fluctuaciones de la glucemia hasta concentraciones bajas o muy elevadas necesitan sistemas sensores de glucosa que faciliten una respuesta fisiológica. Actualmente sabemos que ante una situación de hipoglucemia, se produce una respuesta desde glucoceptores hipotalámicos, que transducen esta señal potenciando la secreción de catecolaminas y glucagón y con ello hacen frente a la situación de gluopenia (20).

Asimismo las elevaciones de la glucemia después de las comidas podría potenciar las interacciones de la GK con la GGRP para facilitar el funcionamiento de sistemas sensores localizados en áreas concretas del hipotálamo. Además la coexpresión en las mismas neuronas del hipotálamo de GK y GGRP con GLUT-2 y los receptores de GLP-1 añaden nuevas acciones de cooperación de estas moléculas sobre la regulación metabólica y sensora de la glucosa en el sistema nervioso central. También las recientes evidencias experimentales acerca de la coexpresión de péptidos orexígenos y anorexígenos y de sus receptores en los mismos núcleos hipotalámicos implicados en el control de la ingesta de alimentos (21) podrían, junto con el sistema sensor de glucosa jugar un papel importante en la obtención de una conducta alimenticia equilibrada.

BIBLIOGRAFÍA

1. MATCHINSKY, F. M.: «Perspectives in diabetes: glucokinase as glucose sensor and metabolic signal generator in pancreatic β -cells and hepatocytes». *Diabetes* 39: 647-652 (1990).
2. BURCELIN, R.; DA COSTA, A.; DRUCKER, D. y THORENS, B.: «Glucose competence of the hepatportal vein sensor requires the presence of an activated glucagon-like peptide-1 receptor». *Diabetes* 50: 1720-1728 (2001).
3. JETTON, T. L.; LIANG, Y.; PETEPHER, C. C.; ZIMMERMAN, E. C.; COX, F. G.; HOWATH, K.; MATSCHINSKY, F. M. y MAGNUSON, M. A.: «Analysis of upstream glucokinase promoter activity in transgenic mice and identification of glucokinase in rare neuroendocrine cells in the brain and gut». *J. Biol. Chem.* 269: 3641-3654 (1994).

4. NAVARRO, M.; RODRÍGUEZ FONSECA, F.; ÁLVAREZ, E.; CHOWEN, J. A.; ZUECO, J. A.; GÓMEZ, R.; ENG, J., y BLÁZQUEZ, E.: «Colocalization of glucagon-like peptide-1 (GLP-1) receptors, glucose transporter GLUT-2, and glucokinase mRNAs in rat hypothalamic cells: Evidence for a role of GLP-1 receptor agonists as an inhibitory signal for food and water intake». *J. Neurochem.* 67: 1982-1991 (1996).
5. EDWARDS, C. M. B.; MEERAN, K.; CHOI, S. J.; TAYLOR, G. M.; HEATH, M. M.; LAMBERT, P. D.; WILDING, J. P.; SMITH, D. M.; GHATEI, M. A.; HERBERT, J., y BLOOM, S. R.: «A role for glucagon-like peptide-1 in the central regulation of feeding». *Nature* 379: 69-72 (1996).
6. RODRÍGUEZ FONSECA, F.; NAVARRO, M.; ÁLVAREZ, E.; RONCERO, I.; CHOWEN, J. A.; MAESTRE, O.; GÓMEZ, R.; MUÑOZ, M. N.; ENG, J. y BLÁZQUEZ, E.: «Peripheral versus central effects of glucagon-like peptide-1 receptor agonists on satiety and body weight loss in Zucker obese rats». *Metabolism* 49: 709-717 (2000).
7. RONCERO, I.; ÁLVAREZ, E.; CHOWEN, J. A.; RABANO, A.; GARCÍA CUARTERO, B.; SANZ, C. y BLÁZQUEZ, E.: «Expression of the glucagon-like peptide-1 receptor and glucokinase in human brain». *Diabetología* 43 (suppl. 1) A30 (2000).
8. ASHFORD, M. L. J.; BORDEN, P. R., y TREHERNE, J. M.: «Glucose-induced excitation of hypothalamic neurons is mediated by ATP-sensitive K⁺ channels». *Pflügers. Arch.* 415: 479-483 (1990).
9. OOMURA, Y.; ONO, T.; OYAMA, H. y WAYNER, M. J.: «Glucose and osmosensitive neurons of the rat hypothalamus». *Nature* 222:282-284 (1969).
10. DUNN-MEYNELL, A. A.; RAWSON, N. E., y LEVIN, B. E.: «Distribution and phenotype of neurons containing the ATP-sensitive K⁺ channel in rat brain». *Brain Res.* 814:41-54 (1998).
11. KARSCHIN, C.; ECKE, C.; ASCHCROFT, F. M. y KARSCHIN, A.: «Overlapping distribution of K-ATP channel-forming unit Kir6 subunit and the sulfonylurea receptor SUR1 in rodent brain». *FEBS Lett.* 401: 9-64 (1997).
12. DUNN-MEYNELL A. A.; ROUTH, V. H.; KANG, L.; GASPESS, L., y LEVIN, B. E.: «Glucokinase is the likely mediator of glucose sensing in both glucose-excited and glucose-inhibited central neurons». *Diabetes* 51: 2056-2065 (2002).
13. NIIMI, M.; SATO, M.; TAMAKI, M.; WADA, Y.; TASKSHARA, J., y KANSANISKI, K.: «Induction of Fos protein in the rat hypothalamus elicited by insulin-induced hypoglycemia». *Neurosci. Res.* 23:361-364 (1995).
14. RONCERO, I.; ÁLVAREZ, E.; VÁZQUEZ, P. y BLÁZQUEZ, E.: «Functional glucokinase isoforms are expressed in rat brain». *J. Neurochem.* 74: 1848-1857 (2000).
15. ÁLVAREZ, E.; RONCERO, I.; CHOWEN, J. A.; VÁZQUEZ, P. y BLÁZQUEZ, E.: «Evidence that glucokinase regulatory protein is expressed and interacts with glucokinase in rat brain». *J. Neurochem.* 80: 45-53 (2002).
16. BATHERTHAM, R. L.; COWLEY, M.; SMALL, C. J.; HERZOG, H.; COHEN, M. A.; DAKIN, C. L.; WREN, A. M.; BRYNES, A. E.; LOW, M. J.; GHATEI, M. A.; CONE, R. D. y BLOOM, S. R.: «Gut hormone PY-Y_{3-36P} physiologically inhibits food intake». *Nature* 418: 650-654 (2002).

17. BLÁZQUEZ, E.; ÁLVAREZ, E.; NAVARRO, M.; RONCERO, I.; RODRÍGUEZ DE FONSECA, F.; CHOWEN, J. A. y ZUECO, J. A.: «Glucagon-like peptide-1 (7-36) amide as a novel neuropeptide». *Mol. Neurobiol.* 18: 157-173 (1998).
18. TANG-CHRISTENSEN, M.; LARSEN, P. J.; THULESEN, J.; ROMER, J. y VRANG, N.: «The proglucagon-derived peptide, glucagon-like peptide 2, is a neurotransmitter involved in the regulation of food intake». *Nature Med.* 6: 802-806 (2000).
19. SCHWARTZ, M. W.; WOODS, S. C.; PORTE, D.; SEELEY, R. J. y BASLEIN, D. G.: «Central nervous system control of food intake». *Nature* 404: 661-671 (2000).
20. BORG, W. P.; SHERWIN, R. S.; DURING, M. J.; BORG, M. A. y SHUMAN, G. I.: «Local ventromedial hypothalamus glucopenia triggers counterregulatory hormone release». *Diabetes* 44: 180-184 (1995).
21. SCHUIT, F. C.; HUYPENS, P.; HEIMBERG, H. y PIPELEERS, D. G.: «Glucose sensing in pancreatic β -cells. A model for the study of other glucose-regulated cells in gut, pancreas, and hypothalamus». *Diabetes* 50:1-11 (2001).

**DOS ESCUELAS DE CIRUGÍA: MADRID
Y BARCELONA. RIBERA SANS Y SALVADOR
CARDENAL (SESQUICENTENARIO)**

***TWO SURGERY SCHOOLS: MADRID
AND BARCELONA. RIBERA SANS AND SALVADOR
CARDENAL (150TH ANIVERSARY OF THEIR BIRTH)***

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

Académico Correspondiente

Resumen

Se cumple el 150 aniversario del nacimiento de dos eminentes cirujanos españoles de la época positivista. Son: Ribera i Sans, y Salvador Cardenal. Con este motivo, se estudian sus biografías, la aportación a la cirugía, como pioneros o innovadores, y la obra escrita realizada. Cada Escuela estuvo en su sitio, si bien guardan un cierto paralelismo científico.

Ribera, en Madrid, docente durante veintitrés años, tiene numerosos discípulos. Es considerado como iniciador de la cirugía de digestivo, pediátrica y pulmonar. Perteneció al claustro de profesores de San Carlos entre los que se encuentran San Martín y Guedea como cirujanos. Fue Director del Hospital del Niño Jesús. Y Académico de la R. A. N. M.

Cardenal es un destacado cirujano y maestro cuya obra se desarrolla en Barcelona. Se le considera el mayor divulgador del método antiséptico en la cirugía española. Fue director del Hospital del Sagrado Corazón, nombrado Catedrático Honorario de Cirugía y miembro del Real Colegio de Cirujanos de Inglaterra. Académico de número de la R. A. M. B. Su vida profesional guardó relación con Ferrán. Fue padre de León Cardenal.

Abstract

Two eminent spanish surgeons from the positivism period were born 150 years ago: Ribera Sans y Salvador Cardenal. To mark this anniversary I have

studied their written work and their contribution to spanish surgery as pioneers. Each school had it, s own place although they kept certain parallelism.

Ribera worked in Madrid as a professor for 23 years and had many disciples. He initiated digestive, pedriatic and thoracic surgery.

He was a professor at San Carlos just like the surgeons: San Martín and Guedea. He was director of the Niño Jesús Hospital and a R. A. N. M. academic.

Cardenal is a distinguished surgeon who carried out his work in Barcelona. He extended the use of the antiseptic method in spanish surgery. He became Director of the Sagrado Corazón Hospital. He was also named Honorary professor of surgery and a member of the Royal School of Surgery in England, and R. A. Barcelona. His work was closely related to Dr. Ferrán, s. His son was León Cardenal.

Hoy, esta Corporación recuerda a unos hombres, que han sido gloria y grandeza de la cirugía española, cuya vida y obra se desarrolla preferentemente a lo largo del positivismo (1850-1914).

INTRODUCCIÓN

El Decano de Medicina de San Carlos le entregó al Dr. Ribera un oficio comunicándole que, fallecido su compañero de claustro el Prof. San Martín, de 59 años, ha dejado éste una manda testamentaria en que lega su cuerpo a la facultad para estudios anatómicos, ante la escasez de cadáveres. En consecuencia, le ruega se encargue de la necropsia.

Al Dr. Ribera, forjado en miles de operaciones y en la cumbre de su carrera quirúrgica, le temblaba el papel en las manos y, con voz emocionada, dijo: «¡Yo no puedo hacer eso!».

La disección anatómica y el estudio del cerebro se realizó en el Gran Anfiteatro de San Carlos, repleto de silenciosos profesores y estudiantes y fue dirigida por el catedrático de Legal, Tomás Maestre.

RIBERA

D. José Ribera y Sans (1852-1912), catalán de nacimiento, Tivissa (Tarragona), se quedó huérfano, a los quince años, y fue recogido por su tío José, de oficio abogado, que residía en Almería. Ésta es la razón de interrumpir los estudios en los Escolapios de Reus,

donde tuvo de compañeros a Gaudí y Toda Güell. Cursó medicina en Granada donde se licencia en 1876. Allí tuvo la suerte de ser, interno y discípulo de un ilustre profesor, proveniente de la escuela de Argumosa, D. Juan Creus y Manso, fervientemente admirado por Ribera, pues de alguna manera veía en él la figura paterna que le faltó. También menciona como su maestro a Vicente Guarneiro Gomez (1819-1880), gallego, que desempeñaba en Granada la cátedra de cirugía. Y cita con respeto a otro de sus profesores: Duarte.

Trasladado Creus a Madrid, para ocupar la cátedra de Cirugía, con él irá Ribera y realiza su tesis doctoral sobre «Toxemia Quirúrgica» (1877). Consigue su primer trabajo como médico de guardia, en el recién fundado, Hospital del Niño Jesús por concurso de méritos valorado por la Real Academia. Un año más tarde pasa a la plantilla de cirugía y seis años después será Jefe Facultativo y Director.

El hospital, copiando modelos de Londres, París y Roma, fue construido gracias a la importante aportación económica y entusiasmo de Dña. María Hernández, Duquesa de Santoña, por sugerencia y consejo de D. Mariano Benavente, que fue su primer Director. Del orden interno se encargó, como en otros hospitales españoles, a las religiosas Hijas de la Caridad.

Benavente es el «fundador de la pediatría en nuestra patria» (4), cuando la mortalidad infantil y perinatal tenía unas cifras alarmantes. El hospital fue situado inicialmente en el barrio de Peñuelas, calle del Laurel y de forma definitiva, desde 1881, en la calle de Menéndez Pelayo, donde actualmente continúa prestando servicio, en vistoso edificio de estilo neomudejar. Precisamente, al celebrarse el 125 aniversario de su fundación, los Dres. Jiménez Serrano y Ollero Caprani han publicado un libro recogiendo testimonios de lo que fue la marcha y acontecimientos desde su fundación hasta nuestros días (31-34).

Al fallecimiento de Benavente en 1885, fue nombrado director Ribera, quien ocupó el cargo hasta su muerte en 1912. Después aparecen como responsables del mismo, el profesor de cirugía Luis Guedea Calvo, Cipriano Pérez y Sarabia Pardo.

Colaborando con Creus y tras varios intentos opositando, Ribera alcanza la titularidad de la cátedra de cirugía de la Facultad de San Carlos en 1889.

Ribera, aunque catedrático de cirugía, dedicó toda su vida profesional al mundo del niño y sus enfermedades, pues fueron trein-

ta y cuatro años de inteligente laboriosidad. Separó la cirugía infantil de la general, y facilitó dentro de la práctica pediátrica el desarrollo de las especialidades básicas.

Para Alvarez Sierra (4), el Hospital del Niño Jesús es «la Meca de la pediatría Española», tal es el número tan importante de casos clínicos que se remiten de todo el país para su tratamiento. Y no duda en calificar a sus médicos de inmejorables. Al cumplir Ribera diez años de ejercicio publica *Estudios Clínicos de Cirugía Infantil* (1887). Por su prestigio fue llamado al Palacio de Oriente para ver, como enfermo, al niño que sería mas tarde el Rey Alfonso XIII.

Ribera, a través de sus discursos y ponencias, pone al día el estado del conocimiento de numerosas cuestiones de la cirugía general. Y da a conocer los primeros casos de cirugía gástrica y abdominal en nuestro país. «Reflexiones acerca de la laparotomía fundada en algunos hechos clínicos» es el título del discurso de ingreso en esta corporación, el 11 de febrero de 1894, al cual contestó el Dr. Juan Manuel Mariani.

Para Mariani, la admiración que siente por Ribera es rotunda, escribe: «... Puede decirse que ha sido el iniciador de toda la Cirugía Infantil moderna es nuestra Patria y que ha ido siempre a la par de los cirujanos extranjeros en la práctica de toda clase de operaciones».

ESTADÍSTICA

Sería prolijo, sin duda, extendernos en su estadística operatoria (39), pero dejemos constancia de 4.885 operaciones, agrupándolas por aparatos: 990 osteoarticulares; 1.052 cabeza-boca-cuello; 128 neo de mama; 92 tórax; 2.587 digestivo; 36 urología.

Simplemente para ver los diagnósticos sobre 518 operaciones de digestivo, son: 120 quistes hidatídicos; 83 gastroenterostomías (no-neos); 65 gastroenterostomías (neo); 36 gastrectomías (3 total); 19 intestino-mesenterio; 17 estrecheces de recto (no-neos); 22 neo de recto; 106 hernias (Bassini-Ribera); 50 hernias (Barker).

Podemos decir que, Ribera, dominó un abanico muy amplio de técnicas quirúrgicas y sus fundamentos fisiopatológicos. En aquellas fechas la cirugía general integraba todas las cavidades y órganos que se operaban, apenas se oteaban las especialidades. Es por la ciru-

gía infantil, cuando ésta alboreaba como una nueva disciplina, por lo que pasado el tiempo más conocemos a Ribera. A este propósito dirá sutilmente: «... la pediatría no será una especialidad, pero sí es muy especial la medicina de los niños...». Como cirujano digestivo y torácico adquiere una importante experiencia y en algunas técnicas es un pionero.

Al parecer, Ribera, es el cirujano que más número de pacientes operó en su época. Usó como anestesia el cloroformo y realizó la cirugía a mano descubierta sin guantes. De entre las aportaciones quirúrgicas debe mencionarse la ligadura abdominal o Método Ribera-Momburg, epónimo que se refiere «a la isquemia transitoria por compresión elástica para practicar con menos riesgo la desarticulación coxo-femoral y la cirugía pélvica» (5).

Es de resaltar la primera esplenectomía que realizó en España en un niño, o la primera gastrectomía total en el adulto, con anastomosis del duodeno al esófago. Más tarde en cadáver diseñaría una incisión en solapa para tener mejor campo, que actualmente no se usa.

OBRA ESCRITA

De su obra escrita destaca el libro *Clinica Quirúrgica General*, editado en Madrid en 1895 por N. Moya. Se refiere a la etiología, diagnóstico, pronóstico y tratamiento de las enfermedades quirúrgicas. En cuarenta y cinco capítulos distribuye las clases tomadas a taquigrafía, en la Facultad, con una extensión de 655 páginas. Está dedicado a Creus y Manso, su maestro.

Este libro, no contiene esquemas, gráficos, fotografías o bibliografía, pero no obstante, recoge de forma clara y precisa como era la praxis de la cirugía en la época de su publicación con gran valor descriptivo.

Ribera dedica un capítulo a la cirugía antiséptica y aséptica, exponiendo cual era el método de Lister (1867) al que considera de una importancia fundamental en la práctica exitosa de la cirugía. Afirma que tuvo una vigencia científica, de una década aproximadamente, pues si bien perduró la filosofía de Lister, y los métodos antisépticos en general, el advenimiento de la asepsia hicieron quedar, en su criterio, el inicial método listeriano prontamente obsoleto.

Llama la atención que Ribera, que publica su libro, un año después de que Cardenal editase la tercera edición del suyo sobre antisepsia, tan leído y apreciado por los cirujanos, no cita a éste, en ninguna de sus páginas, cuando es reconocido el autor catalán como el mejor divulgador del método antiséptico, en España, y es origen de una importante escuela quirúrgica.

Y más aún cuando por esas fechas, Cardenal, ya había sido premiado y aceptado como miembro laureado, por la Real Academia de Medicina de Madrid, en 1880. López-Ríos (33), en su tesis, dice que en 1894 escribió Cardenal una polémica carta a Ribera que entre otras cosa decía «No hemos tenido maestros; a nadie debemos nada en este terreno; a fuerza de penalidades, constancia, vigiliass y disgustos hemos hecho algo, sin protección ni auxilio ajenos, movidos tan sólo por nuestra voluntad y guiados por nuestros mentores; estos últimos han sido las obras escritas por profesores extranjeros». Cabe pensar que este escrito es contestación a otra carta anterior de Ribera, tal vez debido a un comentario adverso sobre la primacía de la introducción de la antisepsia, lo cual trascendió a una revista médica de la época.

Como si se tratase de un texto de historiografía quirúrgica, en el libro de Ribera, pueden leerse sobre las enfermedades mas frecuentes que le tocaron asistir: lesiones sifilíticas, tuberculosas y tumorales. Se extiende en la asistencia de patologías ostoarticulares y los tumores blancos de las extremidades superiores o inferiores.

Otro título, de Ribera es *Elementos de Patología Quirúrgica General* (1900), I-II tomos, dedicado como libro de texto para la licenciatura. A lo largo de sus capítulos trata de: la inflamación, la supuración, la gangrena, las úlceras y fistulas, las heridas y traumatismos, los rayos X (descubiertos 5 años antes), las lesiones tuberculosas y los tumores.

Ribera fue un magnífico cirujano, docente y académico, más dotado para redactar que para hablar en público. Se le describe como más bien bajo de altura y con unos ojos muy vivos tras su gafas sin montura. En sus últimas fotos se le aprecia con barba y bigote blanco y una amplia frente por la escasez de pelo. Usaba levita como era costumbre y su carácter algo brusco, junto a la exigencia como docente, le hacía no ser querido por todos. Era amante de la música y generoso como lo demuestran sus donaciones económicas, e incluso la entrega de su biblioteca a la Facultad. Casado, creo que no tuvo hijos.

Fallecido tempranamente a los sesenta años, de hemorragia cerebral, en su necrológica, escribe el anatomista Olóriz un panegírico altamente elogioso y dice: «Ribera a fuerza de trabajo, talento, probidad y constancia fué conquistando la aureola de cirujano, publicista, maestro y patriota». Efectivamente, la facilidad para redactar, que tuvo desde niño, le ayudó en su labor literaria y autor de libros.

Su participación en Congresos, tanto nacionales como internacionales, fue muy activa en los últimos años de su vida. Le gustaba presentar su criterio sobre temas de actualidad y las aportaciones de los cirujanos españoles al campo de la cirugía, lo cual se recogen en su obra póstuma *Estudios Monográficos de Cirugía Española*. Ésta es la razón por la cual Olóriz le adjudica el termino de «patriota», pues siempre enalteció a sus maestros y a lo español.

ESCUELA

Dejó establecido un Premio, que lleva su nombre, al mejor estudiante de Patología Quirúrgica. De entre sus discípulos, señalar a Miguel Royo González (n. 1881), catedrático de Cirugía en Salamanca y Sevilla; Víctor Escribano García (n. 1870 Burgos), titular de Anatomía Operatoria en Granada, y que ha dejado interesantes monografías sobre historia de la anatomía y cirugía. También a Tello, profesor de Histología en Madrid; Julián de la Villa (n. 1881, Madrid), titular de anatomía en Madrid; García Tapia, catedrático de ORL; Isidoro de la Villa, Catedrático de Obstetricia en Valladolid, etc.

Aunque la vida de Ribera primeramente se desarrolló en Andalucía, para después establecerse, trabajar y triunfar en la Villa y Corte, él siempre tuvo presente a su tierra de origen, y al hablar denotaba un acento catalán. El que tuviese una hermana monja, en el Monasterio de Religiosas Cistercienses de Valbona, le hacía ir a visitarla y mantener más vivas sus raíces, si cabe. Al Monasterio hizo donación de la decoración de una capilla.

Sobre Ribera, la fortuna de encontrar los trabajos de Pego Busto (39), Víctor Escribano (23) y Espina Capo (24). Y recientemente la investigación realizada por Bartolomé Solohaga (6) nos han abierto las puertas del conocimiento de este magnífico profesor y cirujano general que es valorado como uno de los mas brillantes de la historia de nuestro país.

SAN MARTÍN

Obligado comentario merece un coetáneo quirúrgico y compañero entrañable de claustro de Ribera, en la Facultad de San Carlos. En la cirugía de Madrid, de aquella época, brillaba, más que ninguno, el navarro D. Alejandro San Martín (1847-1908), cinco años mayor que Ribera. San Martín ha sido considerado como una personalidad extraordinaria tanto por su inteligencia y capacidad de estudio como por sus cualidades humanas. Para Marañón, era la mejor cabeza de la medicina española con exclusión de la de Cajal.

Fue director del Clínico, Consejero de Instrucción Pública, llegando a Ministro y Senador por la Universidad Central. Relata García del Real (27) la extrema emotividad que produjo su fallecimiento, cuando además dejó una manda testamentaria para que su cuerpo fuese diseccionado para enseñanza de los alumnos, queriendo servir de ejemplo, dada la escasez de cadáveres de que disponían los estudiantes. Autopsia que se realizó en el solemne Anfiteatro de San Carlos, en un acto que sobrecogió a sus colaboradores y discípulos, y que fue dirigida por el catedrático de Medicina Legal D. Tomás Maestre.

San Martín fué nuestro primer cirujano vascular y experimental. Sus trabajos e intervenciones se refieren preferentemente a esta rama de la cirugía, dice Escribano, (23): «... Antes de él se habían hecho fleborrafias y suturas arteriales en heridas, ya quirúrgicas, ya accidentales y en el tratamiento de los aneurismas; pero la sutura arteriovenosa con posibilidad de invertir la fisiología del curso de la sangre en una de nuestras extremidades, y la multitud de aplicaciones que de esta idea madre se han derivado y todavía se deducirán, en las arteritis, embolias, destrucciones arteriales extensas, etc., a San Martín pertenecen».

Y, efectivamente, sus trabajos valieron para que el catalán Rudolf Matas (1860-1957), afincado en New Orleans, cultivase con éxito la cirugía vascular, e incluso fuesen de ayuda para Alexis Carrel (1873-1944), Premio Nobel en 1912.

Sobre las fístulas arteriovenosas, realizadas experimentalmente con cerca de 40 perros intervenidos, lo estudia Pérez Gallardo en una tesis (41). Esa idea primigenia, de San Martín, de aprovechar las vías venosas para a través de ellas dirigir la sangre arterial, hubo de reconocer su inviabilidad en la realidad.

En la escuela matritense de San Martín se formaron grandes

docentes y cirujanos como: Olivares, hermanos Covisa, Goyanes, Hernando, Juarros y Cañizo.

Con emoción, Ribera (46) escribió al fallecimiento de San Martín, que ocurrió cuatro años antes de su propia muerte, la biografía de su compañero. Se dice que los alumnos maliciosamente les preguntaban: ¿Quién de los dos es mejor cirujano? Y si se dirigían a Ribera decía que San Martín, pero si el preguntado era San Martín contestaba que Ribera.

Estamos en unas décadas históricas, avanzado ya el diecinueve, en que desde Europa y con mayor resonancia en Barcelona se afianza una nueva forma de operar, tutelada y difundida por Cardenal. Pero, ¿Quién fue Cardenal?

CARDENAL

D. Salvador Cardenal Fernández (1852-1927), valenciano de nacimiento, hijo de padre vasco y de madre burgalesa, según afirma Corachán (16), tiene una obra vinculada plenamente a Barcelona, donde ejerció como cirujano y director del Hospital del Sagrado Corazón, desde su fundación en 1879. En una reseña publicada por Antonio Morales (36) en 1927, dice: Cardenal vino a Cataluña siendo niño porque «su padre era un notable ingeniero, fue el que dirigió el canal de Urgel, así como su hermano Carlos también ingeniero había dirigido muchas obras».

Cardenal fue viajero desde joven e influenciado por su padre estudioso y conocedor de varios idiomas, y ya licenciado en medicina en la Facultad de Barcelona (1874), visita: Inglaterra, Francia, Suiza, y Viena, recabando información sobre una nueva manera de practicar la cirugía, en base al conocimiento de los microorganismos patógenos responsables de la sepsis en las heridas y fracturas. Podemos decir, sin empacho, que este emblemático médico puso en contacto la cirugía española con las corrientes mundiales. Cardenal conoció a T. Billroth en Viena, aprendiendo de éste la cirugía del cuello y del estómago. En Berna tuvo la oportunidad de ver al P. Nobel de 1909 de T. Kocher y su sistemática cirugía del bocio.

Pero el acontecimiento que mas marcó su aprendizaje fue la visita a J. Lister (1827-1912) en Londres, pues desde de ese momento se convirtió en el adalid del método antiséptico.

Esa renovación de la práctica quirúrgica, la transmitió a los ci-

rujanos de su entorno catalán, y posteriormente a los que iban llegando para conocerle. Sus viajes de estudios por Europa han sido glosados por Trías Pujol (55). También entabló amistad con Leopold Ollier (1830-1910) en Lyon, que fue un avanzado de los injertos cutáneos.

Cardenal se distinguió, en el postgrado, como un magnífico anatomista y tiene a mucha gala poner en su currículum: Preparador anatómico por oposición de la Facultad de Medicina de Barcelona. Dejó mas de 3.000 preparaciones para el Museo. Fue su mentor Letamendi.

Agustí Peypoch (2), en frase feliz, escribe: «Cuna de la Cirugía Española se ha denominado al Hospital del Sagrado Corazón de Barcelona, pues en él se desarrolló la obra y aportación del más significativo de nuestros maestros del arte quirúrgico, que fue Cardenal».

CIRUGÍA ANTISÉPTICA Y LIBRO

Data de 1879 la presentación en la Real Academia Nacional de Medicina, del trabajo de Cardenal (12) *Caracteres diferenciales histológicos y clínicos entre el lupus, el epiteloma, y el cancer ulcerado, estudio comparativo de su tratamiento*. Esta monografía fue ganadora del concurso que llevaba aparejado el premio de Socio laureado (con medalla de oro), al que Cardenal siempre tuvo en gran estima.

Desde que en 1880, cuando contaba 28 años, publica *Guía práctica para la cura de las heridas y aplicación del método en cirugía*, donde recoge su experiencia profesional de tres años, es considerado como el introductor y divulgador de la moderna cirugía antiséptica. Lo que es tanto como decir: que la cirugía inicia la mayoría de edad. Hasta esa época las infecciones arruinaban los intentos quirúrgicos, la simple laparotomía era considerada como un acto temerario, en todo el mundo.

Cardenal empleó productos antisépticos tanto en pulverizaciones de los campos operatorios, como en gasas impregnadas o perfusiones mediante catéteres de las heridas. Acérrimo listeriano, usó inicialmente el ácido fénico al 5 % para pasar después a la desinfección simplemente por el alcohol al 5 % por considerarlo menos mortificante para los tejidos. Puede ser oportuno aclarar que como antisépticos en cirugía se usaron muchos productos químicos a fin de conseguir el efecto deseado como: sublimado corrosivo, creoso-

ta, cloro, ácido tánico, timol, permanganato potásico, formaldehído, cianuro de mercurio y cinc, citrato de plata, etc.

La segunda edición de su libro de cirugía antiséptica ve la luz en 1887 y lo prologa en Ginebra. Y tras dieciséis años de experiencia con el método quirúrgico publica una tercera edición. Obra extensa aunque, Cardenal, denomine manual, con el título *La Cirugía Antiséptica* 1896 (2.^a ed.). Para esas fechas ya nadie duda en Europa de la eficacia del método. Permitió una mejora espectacular en los resultados, tan graves hasta entonces, de la cirugía de las cavidades y de las grandes heridas. Se salta ya esa gran barrera de las infecciones que impedían la progresión de la cirugía. Como anexo, incluye Cardenal, un capítulo dedicado a la naciente microbiología co-firmado por Ferrán.

La valoración de la obra para Trías Pujol (55) es alta; dice: «... la importancia del libro hace que constituya la Biblia para los cirujanos españoles y denomina a Cardenal profeta de la Antisepsia en España como lo fue Lucas Championiere en Francia». El elogio encendido de Corachán (18) no es menor, quien le señala como «Apóstol de la cirugía moderna», y agrega «era un cirujano que ante un enfermo razonaba como un internista».

La aportación científica de Cardenal debe enmarcarse, aunque no únicamente, en la enseñanza del método antiséptico aplicado a la cirugía. Con profundidad ha estudiado Riera (48) la difusión, y la aceptación o no, por parte de los cirujanos, de esa época, de este sistema de operar y tratar las heridas hasta llevarlas a curación.

Ampliando la información, en el tema de la asepsia, ya en 1890 se traduce al español el trabajo de Von Bermann (8) con el título *La asepsia en cirugía*, y ese mismo año Ruyter, ayudante de Bermann (50), publica en Madrid *La asepsia en vez de la antisepsia*. Aportaciones, pues, fechadas seis años antes que la última edición del libro de Cardenal.

Es por ello que Ribera hubiese afirmado que el esplendor de la antisepsia duró tan sólo una década. Ese periplo científico estudiando la evolución de la antisepsia a la asepsia, tomando como protagonista a Cardenal ha sido descrito por Danón Bretos (20) pormenorizadamente, reproduciendo el método y mostrando sus aparatos.

El magisterio de Cardenal en el terreno quirúrgico se concreta mucho en la cirugía abdominal, aunque fuese un cirujano general, y como tal tiene en su estadística gran cantidad de otros tipos de operaciones como las traumatológicas y óseas en general.

Es en la cirugía del estómago donde se han forjado los cirujanos del abdomen, desde su comienzo, con la evolución de sus técnicas, a lo largo de un siglo (56). Pues bien, la historia del tratamiento de la úlcera y del cáncer gástrico va muy unida tanto a Cardenal, como pionero, como a miembros de su escuela catalana a los cuales dedicaremos unos comentarios. Como anestesia usó el cloroformo y se le considera el introductor de los guantes quirúrgicos para operar que preconizaba Haldsted desde América.

Cardenal, en 1881 ya realiza la laparotomía con buenos resultados. Como es sabido, la cirugía del abdomen se inicia, mundialmente e igual ocurre aquí, para extirpar los grandes quistes de ovario y otros procesos pelvicos. Posteriormente las manos de los cirujanos se atreven a derivar el estómago estenosado, en el píloro, a un asa intestinal, e incluso a reseca el estómago. Pero siempre con una buena antisepsia.

ESTADÍSTICA

Recurriendo a la pluma de Corachán (18) que recogió la estadística operatoria de Cardenal, ofrecemos los siguientes datos hasta 1927, sobre un total de 10.220 intervenciones generales, de las cuales son 2.790 laparotomías, con las siguientes indicaciones; 335 ovariectomías; 554 histerectomías; 507 apendicectomías; 654 gastroenterostomías; 740 otros diagnósticos. Puedo decir que «el libro de operaciones» de un cirujano era, hasta la llegada del ordenador, un tesoro que se guardaba en la biblioteca siempre. Era el testimonio de lo que fue su actividad profesional, su vida como cirujano, algo que hoy se ha perdido.

ESCUELA

El equipo inicial de Cardenal está representado por el valenciano Álvaro Esquerdo (n. 1851), y Francisco de Sojo, quien hace la primera gastro-enterostomía a finales de siglo y que más tarde se dedica a la otorrinolaringología. Desde 1898 se divulga la gastroenterostomía en España por el impulso de Francisco Rusca Domenech (1868-1909), interno de Cardenal, quien estudió la carrera en Montpellier, y obtuvo la cátedra de Cirugía de Barcelona en 1905, vacante por la muerte de Giné y Partagás.

Miguel Angel Fargas i Roca (1858-1916) Castelltersol, hace en 1895 la derivación gástrico intestinal en una joven con estenosis pilórica, que estaba pendiente de la llegada a Barcelona de Doyen, el cirujano parisino y ante la imposibilidad de venir éste, realizó la intervención él mismo.

Fargas, se dedicará, mas adelante, a la Ginecología y Obstetricia alcanzando la cátedra de Barcelona en 1893 y originando una escuela brillantísima que se autodenominaba la Escuela de Salerno.

Leyendo a Nubiola (33), en una descripción de la vida y obra de Fargas, recuerda a: Jacinto Reventós, Luis Frontera, Enrique Noguera, Antonio Morales, González Mármol, y él mismo. La necrológica de Fargas, en la Sociedad de Ginecología Española (52), corrió a cargo de Moreno Álvarez, Cardenal, Cospedal y Nubiola, el 1 de marzo de 1916. Su vida y obra ha sido recogida por Alonso Duato (3), con motivo de una tesis.

Y paralelamente en Madrid, este último lustro del diecinueve, si se leen las actas de la Real Academia, se encuentran igualmente las primeras comunicaciones de estas derivaciones gástricas y habrá que referirse a Ribera, Gutiérrez, Calvo, y Cervera (8), etc.

Cardenal, en Barcelona, realiza en 1902, la primera colecistogastrostomía, aplicando un criterio fisiopatológico para la curación de la úlcera, tratando de alcalinizar el medio ácido del estómago, siguiendo las directrices de Jaboulay, que tanta influencia tuvo en los ambientes científicos alemanes y españoles.

En su época de madurez profesional le describe el cronista de Barcelona Joaquín Nadal (37) «más bien bajo que alto; perfectamente proporcionado; el tronco coronado por una cabeza de cráneo redondeado y dimensiones tal vez excesivas para su cuerpo; facciones correctas y muy marcadas; ojos de mirar penetrante tras los cristales de sus gafas con montura de oro; bigote largo pero escaso, y largas patillas que dejaban al descubierto un mentón voluntarioso». Y, por lo que se refiere a la manera de vestir, recuerda el cronista que era sumamente cuidadoso de su persona, con levita corta, azul oscuro o negra, con reminiscencia de guerrera militar, sin solapas y cuello de camisa de su invención.

También dice Corachán que Cardenal tenía una magnífica biblioteca y que en los márgenes de los libros hacía anotaciones, sobre su criterio al respecto, con gran enjundia. Cardenal (14), contestando al ingreso de Fargas en la Real A. de Barcelona en 1894, escribe: «El cirujano realizará la intervención que indica si en lugar de tra-

tarse de una persona extraña, se tratara de sus hijos, de su madre, o de uno mismo». Esta frase encierra, en sí misma, una verdadera lección de ética.

CONTEMPORÁNEOS CATALANES

Otros contemporáneos de Cardenal en Barcelona son los catedráticos de cirugía: Morales Pérez (n. 1856), quien le dedicó unas emotivas cuartillas, a su fallecimiento, en el *Siglo Médico*, y Enrique Diego Madrazo (1850-1942), santanderino, el más longevo de los cirujanos españoles, pues vivió 92 años, quien ocupó la plaza durante dos años y es autor del libro *Lecciones de Clínica Quirúrgica*, 1888 (Barcelona); es seguidor de Cardenal en la práctica antiséptica y divulgador de ella en la cornisa del Cantábrico. A él se refiere Corbella (19) sobre la actitud que le impulsó a dejar voluntariamente la cátedra de Cirugía de Barcelona, en tan corto espacio de tiempo.

Y el aragonés Luis Guedea y Calvo (1860-1916), catedrático de Cirugía sucesivamente en Cádiz, Barcelona (hasta 1894) y Madrid (1896). Ingresó en la R. A. N. de M. en 1908 y editó los *Apuntes de Patología Quirúrgica*.

Sin duda, el talante, impulso y entusiasmo de hombres como Cardenal contribuyeron a elevar el nivel de la Cirugía española, e intentaron ponerla al día a semejanza de los países más destacados de Europa. Dice Jaime Pi-Figueras (1900-1991) (43), el maestro contemporáneo de la cirugía del Hospital de San Pablo: en la España de 1915, «la gastroenterostomía dejó de ser infrecuente para convertirse en habitual, así como algunas resecciones por tumor gástrico».

Lo cual corrobora la contestación de Fargas a Bartrina en la Real Academia de Barcelona, al manifestar: «... que si antes en la cirugía del estómago se estaba pendiente de Doyen, en 1915 lo operan en Barcelona habitualmente Cardenal, Álvaro Esquerdo, Morales, Ribas y Ribas, Torres, Reventós, Estapé, Pujol y otros muchos jóvenes más, pudiendo reunir más de un millar de casos de esta cirugía».

Leer estas palabras abren el conocimiento de lo que ha sido la transmisión del saber de unas generaciones a otras, pues varios de los autores citados, a su vez, fueron punto de iniciación de nuevas escuelas de cirugía.

En Inglaterra, por la difusión del método antiséptico que hizo Cardenal, se le acepta, en 1890, como miembro del Real Colegio de

Cirujanos. En 1922, ya mayor, su designación como Catedrático Honorario de Cirugía de la Facultad de Medicina de Barcelona quiso ser una muestra de consideración y gratitud por su obra y magisterio.

Cardenal supo agrupar a su alrededor una pléyade de primeras figuras de la cirugía, orgullosos de haber pertenecido a su escuela, que, aparte de sus iniciales colaboradores, son: Raventós, Requesens, Ribas y Ribas y su propio hijo León, cuya práctica profesional se adentra en el siglo xx.

Anecdóticamente se recuerda que, siendo mayor D. Salvador Cardenal, asistía a los congresos nacionales de Cirugía, y los asistentes que no le conocían preguntaban: ¿Quién es ese señor?, y tenían que contestarles: «Es el padre de D. León Cardenal».

FERRÁN

D. Jaime Ferrán i Clúa (1852-1929), hijo de médico, natural de Corvera de Ebro, en Tarragona, debe ser recordado con generosidad. Se trata de nuestro primer español dedicado al conocimiento del mundo de los micro-organismos, que, cómo se sabe, se desarrolla, en la comunidad científica internacional, intensamente, en la mitad posterior del diecinueve.

Emulando a las escuelas de París y Berlín, Ferrán, inicialmente, en su pequeño laboratorio particular de Tortosa, sin ayudas e incluso soportando a detractores, y más tarde como director del Instituto de Higiene Municipal de Barcelona hasta 1904, avanzó en el conocimiento de las bacterias, y preconizó las vacunaciones de la población, por ejemplo, contra la epidemia del cólera de 1885 en Valencia, donde hubo 4.919 muertos, y preparó la vacuna antitífica en 1887, con éxito, y lo intentó sin resultado contra la tuberculosis.

Fruto de la colaboración con Cardenal será el anexo sobre bacteriología quirúrgica en el libro de éste, donde pueden apreciarse preciosas láminas de las primeras identificaciones del mundo de los micro-organismos. Para Matilla (35) «es una estrella de primera magnitud y, dentro del ámbito de la Bacteriología y ramas anejas, es la primera figura, creadora de conceptos y principios básicos, que después resultaron altamente interesantes e inalterables en gran medida». Recuerda Díaz-Rubio (21) cómo, en 1884, Ferrán mereció que la Real Academia de Medicina premiara su trabajo *Memoria sobre el parasi-*

tismo bacteriano, cinco años después del premio que ganó Cardenal. Su biógrafo Bertrán, en 1917 (11), no dudó en titular su libro *La vida de un sabio útil: Ferrán*. Y, con sutil perspicacia, Leyva-Cobián (32) denuncia cómo la herencia de Pasteur fue duradera mientras el legado de Ferrán fue efímero, en gran medida por esa idiosincrasia de los españoles, tan poco dispuestos a valorar lo propio.

INTERVENCIONES

Prof. Durán Sacristán

Quiero felicitar con gran entusiasmo, por el afecto que le tengo, al Prof. Francisco Vázquez Quevedo por la excelente y amena conferencia que acabamos de escuchar.

Para un cirujano general es un gran placer oír hablar de esta época del Positivismo Naturalista, en que los grandes cirujanos hacían toda la cirugía: la asentaron sobre bases morfológicas, anatomopatológicas y clínicas e hicieron que sus hallazgos, técnicas y experiencia, sirvieran de pauta al quehacer quirúrgico ulterior a su época. Realmente, muchos criterios y prácticas de entonces se han prolongado hasta nosotros.

Es muy meritorio que el Dr. Vázquez Quevedo, que es un cirujano excelente y prestigioso, que dirige la Academia de Cantabria con enorme éxito y actividad, utilice también sus dotes de historiador de la Medicina y de forma más concreta de la Cirugía para hacer excelentes publicaciones y comunicaciones a esta Real Academia, de forma periódica y cabal.

La biografía que ha presentado hoy de Ribera y de Cardenal han sido ejemplo de lo que hay que estudiar y difundir de estos dos hombres claves de la Cirugía española de finales y comienzos de siglo en el Positivismo.

Muchas felicidades al Dr. Vázquez de Quevedo, que sabe bien la gran valoración y cariño que sentimos por él en esta Casa.

Prof. Tamames Escobar

Felicito a mi buen amigo el Dr. Francisco Vázquez de Quevedo, que, una vez más, hace gala de sus conocimientos sobre la historia

de la Cirugía. El interés de su conferencia aumenta con la amabilidad en la presentación y capta nuestro interés y atención desde el primer momento. Despierta, en nosotros, la nostalgia de los años de las ilusiones, los de la carrera y los primeros años como cirujanos, y nos recuerda las instalaciones y nuestro trabajo en el viejo Hospital de San Carlos. De la época en que se iniciaba, con fuerza, el nacimiento de las especialidades, aunque vivíamos, todavía, aquella actividad tan gratificante para el cirujano, que, en su trabajo diario, era capaz, tanto de tratar una fractura como de reseca un estómago o llevar a cabo alguna de las primeras intervenciones que empezaban a hacerse sobre el corazón. Con su trabajo, el Dr. Vázquez de Quevedo evitará que seamos olvidados. Siempre permaneceremos en las páginas de su *Historia de la Cirugía en España*.

En este momento yo no sería fiel a la memoria del Dr. Ribera Sans, si no le recordara con agradecimiento. En el curso 1950-51 conseguí el Premio que él dejó establecido, que se obtenía por oposición, sin programa previo. Recuerdo que el tema que tuvimos que desarrollar, los tres o cuatro alumnos de quinto curso que nos presentamos, fue el del *Estado actual del tratamiento de las cardiopatías congénitas*. Suponía este tema un homenaje al mismo Ribera Sans, impulsor de la Cirugía infantil y una gran novedad entonces, pues no olvidemos que la primera ligadura de un ductus la había realizado Gross, en 1938, es decir, doce años antes y sólo habían transcurrido seis años desde que Blalock efectuara la intervención que lleva su nombre unido al de la Dra. Taussig, para el tratamiento de la Tetralogía de Fallot o Crafoord, reseca, con éxito, la zona estrecha de la coartación de aorta, seguida de la anastomosis de ambos extremos de la aorta, seccionada.

Al proyectar la diapositiva de la convocatoria del Premio correspondiente al curso 1940-41, he podido ver el nombre de alumnos que luego fueron cirujanos prestigiosos, como Carmelo Gil Turner.

En cuanto a Alejandro San Martín Satrústegui, efectivamente, es reconocido mundialmente, como un pionero de la cirugía vascular, en el tratamiento de la isquemia de las extremidades inferiores. Yo creo que cuando él practicó la anastomosis latero-lateral entre arteria y vena femoral, buscaba el desarrollo de una circulación colateral salvadora, como sabemos ocurre en el caso de los aneurismas arteriovenosos y no tanto el paso de sangre, por la vena, a la periferia, ya que razones hemodinámicas obvias hacen que la sangre fluya centrípetamente en la vena, aparte de que las válvulas veno-

sas, a menos que se hagan insuficientes, impiden su llegada al lecho distal. Esta operación practicada en 1902 ha sido, después, recordada por los cirujanos y practicada en diferentes ocasiones, con el mismo objetivo, el del aumento del riego arterial en la extremidad isquémica. Nosotros mismos, hace ahora treinta años, desarrollamos un procedimiento para aquellos casos en que el *by-pass* arterial se implanta en arterias con mala salida distal. Seccionábamos transversalmente la vena safena y, ligando el extremo distal, anastomosábamos el proximal a la arteria, distalmente al extremo distal del *by-pass* arterial, buscando la derivación del exceso de sangre a la vena safena. Pero al no conseguir, en los diferentes casos extremos en que lo empleamos, éxitos evidentes, acabamos abandonando el procedimiento.

Quiero también recordar a José Goyanes Capdevilla, que aparece en una de las fotografías que nos ha mostrado, y que es reconocido, internacionalmente, como el primer cirujano en el mundo que, en 1906, empleó un segmento de vena para sustituir la arteria poplítea.

Mi felicitación, nuevamente, al Dr. Vázquez de Quevedo por el interés de su comunicación y la atractiva manera de presentarla.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Nos felicitamos nuevamente hoy por dos magníficas ponencias. En primer lugar, la conferencia del Prof. Blázquez, llena de contenido fisiopatológico, muy actualizada, muy clara, sobre ese problema que constituye una reunión de funciones que, reguladas fundamentalmente por el hipotálamo, tienen como resultado asegurar la estabilidad del metabolismo, de la glucosa y de sus funciones colaterales. La conferencia ha sido perfecta y muy actualizada, por lo que felicito muy sinceramente al Prof. Blázquez, sobre todo en la exposición de los sistemas de la glicoquinasa, de las proteínas reguladoras, de toda esta cuestión metabólica y de los sensores, receptores y funciones interrelacionadas de estas importantes funciones metabólicas.

En la segunda conferencia, tengo que felicitar al Prof. Vázquez de Quevedo por muchos motivos. Gran cirujano, a la par que historiador magnífico de la cirugía y la medicina, ha traído a nuestra memoria a dos figuras que fueron Académicos de esta Corporación.

Glosar la figura de esos hombres que en muchos años nos han precedido es motivo de especial gratitud por parte de todos nosotros. Dos grandes cirujanos: Ribera Sans, formidable, muy importante, con una gran obra, libros importantes de cirugía y patología quirúrgica, en una época, además, en que la técnica quirúrgica tenía las dificultades propias de una parte de la preparación del enfermo, anestesia, posteriormente infecciones, etc. El otro gran personaje de la cirugía, Salvador Cardenal, con tratados importantes sobre anti-sepsia, etc., y con la importante gloria de haber sido recibido como miembro del Colegio de Cirujanos de Londres por sus méritos indiscutibles.

Yo he oído hablar mucho a cirujanos catalanes en congresos sobre la figura de Cardenal padre, como entonces decíamos, y, como es natural, ha recordado a su hijo, D. León Cardenal. Yo no fui discípulo de él, porque lo fui de D. Laureano Olivares; al llegar a esa parte de la asignatura unos íbamos con Cardenal y al año siguiente tocaba con Olivares, gran cirujano éste.

Pero todos recordamos a D. León Cardenal por esos pasillos de San Carlos, su figura enjuta, elegantísimo, de una habilidad quirúrgica grande al que todos íbamos a ver operar desde la parte alta del quirófano; importante cirujano, gran técnico quirúrgico, gran profesor de cirugía como también lo fue el Dr. Olivares Y todos los que aquí se han citado. Es obligado para mí, además, recordar a León Cardenal en su faceta como Rector de la Universidad Complutense en aquellos años tremendos de la preguerra y guerra civil española. Era un hombre que poseía el don de la amabilidad y, a pesar de las dificultades de aquellos años, estabilizó la entonces Universidad Central.

Con este recuerdo a D. León Cardenal, a su antecesor D. Salvador y a Ribera Sans, y a todo lo que la cirugía y los cirujanos han hecho por el progreso de la medicina, les pido excusas por haberme prolongado emocionalmente en estas palabras.

Se levanta la sesión.

BIBLIOGRAFÍA: Petición al autor (Paseo de Pereda, 20 - Santander. 39004 Cantabria). Por su extensión.

XV SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 3 DE JUNIO DE 2003

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

**MARCADORES MOLECULARES DE RIESGO
DE METÁSTASIS EN EL CÁNCER COLORRECTAL**
*PREDICTIVE MOLECULAR MARKER OF DISTANT
METASTASIS IN COLON CANCER*

Por el Excmo. Sr. D. JULIÁN SANZ ESPONERA

Académico de Número

ANGIOGÉNESIS Y VASCULOGÉNESIS CARDÍACA
ANGIOGENESIS AND HEART VASCULOGENESIS

Por el Excmo. Sr. D. JUAN JIMÉNEZ COLLADO

Académico de Número

**MARCADORES MOLECULARES DE RIESGO
DE METÁSTASIS EN EL CÁNCER COLORRECTAL ***
***PREDICTIVE MOLECULAR MARKER OF DISTANT
METASTASIS IN COLON CANCER***

Por el Excmo. Sr. D. JULIÁN SANZ ESPONERA

Académico de Número

Resumen

El desarrollo y la progresión del cáncer de colon es la consecuencia de la acumulación de múltiples mutaciones genéticas. Actualmente se aceptan dos mecanismos patogénicos diferentes en la aparición de estos tumores. La primera vía, denominada la vía APC/Bcatrina está caracterizada por la existencia de una inestabilidad cromosómica que da lugar a la acumulación de mutaciones en diferentes oncogenes o genes supresores y ocurre a través de una serie de cambios morfológicos identificables. La segunda vía está caracterizada por una lesión en los genes «ADN mismatch repair genes» y se caracteriza por la acumulación de múltiples mutaciones, pero los genes afectados son diferentes y no hay una correlación morfológica.

Presento un estudio utilizando tissue-array sobre el valor predictivo de la presencia de metástasis hepática en pacientes con cáncer colo-rectal que se encuentran en estadio T2 N0 de distintos marcadores moleculares. Nuestros resultados muestran que un aumento en la expresión de survivina, CDK, MIBI y Topoisomerasa II se asocian con la presencia de metástasis en este tipo de tumores.

Abstract

Tumor development and progression is driven by the accumulation of somatic genetic alterations. Two major pathways have been suggested in colon tumorigenesis. The first one, The APC/B-catenin pathway consists of chrosomal imbalance (Instability) and therefore accumulation of different oncogenes and tumor supressor genes mutations associated with morphologi-

cal changes. The second one is characterized by «DNA mismatch repair genes» damage with subsequent accumulation of somatic genetic predictive markers of distant metastasis using tissue microarrays in T2N0 colon cancer. IN our series, we detected over expression of survivin, CDK1, MIB1 and topoisomerase IIa in metastatic tumors.

En la última década se ha producido un incremento exponencial de nuestro conocimiento sobre los mecanismos moleculares que originan las neoplasias y que condicionan su posterior comportamiento biológico. A pesar de ello, la repercusión en la práctica clínica de dichos avances nosológicos es actualmente escasa. Es por ello necesario, encauzar los esfuerzos de la investigación, a conseguir una mayor proyección clínica de dichos conocimientos. Dos retos fundamentales deben plantearse en el momento actual con el objetivo último de mejorar nuestra función asistencial: el diagnóstico precoz de los tumores y la aplicación de la mejor opción terapéutica posible en cada paciente. Hemos hablado en esta Academia, en otras ocasiones, sobre las aplicaciones de estas técnicas en el diagnóstico precoz de los tumores. Analizaremos hoy, con mayor detalle, si en el momento actual los conocimientos moleculares pueden mejorar la especificidad y eficacia de nuestros recursos terapéuticos, buscando como objetivo, un tratamiento individualizado «a la carta», de los tumores (10).

Dentro de este tratamiento individualizado, a su vez, se podrían distinguir dos capítulos: el desarrollo de nuevas dianas terapéuticas y la optimización de los recursos terapéuticos actualmente existentes. Dentro de este último punto, la principal aportación que podría realizar la patología molecular, es distinguir entre casos en los que la extirpación quirúrgica habría sido curativa, de aquellos en los que pueden persistir células neoplásicas en el paciente, a pesar, de no existir evidencia clínica de ello, y que por tanto se beneficiaran de terapias coadyuvantes como la quimio o radioterapia, o incluso nuevas terapias génicas o inmunoterapia. Con ello, se podrían reducir cortes socio-sanitarios, empleando las terapias más efectivas en cada caso e impedir tratamientos coadyuvantes innecesarios en otros casos.

Las nuevas tecnologías están permitiendo un acercamiento eficaz a los análisis masivos de la expresión génica en los tumores. Los microarrays de c-DNA son ya hoy un arma eficaz que permite el estudio de miles de genes en amplias series tumorales. Los análisis de agrupamientos están permitiendo descubrir nuevos perfiles de expresión génica asociada a tipos tumorales previamente particularizados, o nuevos subtipos identificados a la luz de las relaciones

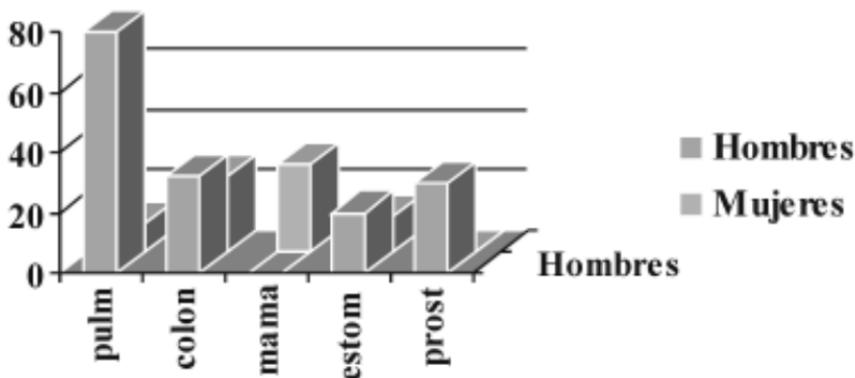


TABLA I.

establecidas entre estos análisis y la situación clínica de los pacientes. Estos ensayos están basados en el estudio de los niveles de expresión del ARN.

De un modo paralelo y con entidad propia, se está desarrollando en estos últimos años, un método sencillo de análisis de expresión génica: los «Tissue-array», que se han convertido en un método efectivo para el estudio, en series tumorales amplias, de estos perfiles mediante el análisis de ADN con técnicas de hibridación in situ o de expresión de proteínas mediante la inmunohistoquímica. Este método permite el análisis de cientos de marcadores tumorales en secciones consecutivos del tumor, con un mínimo de requerimiento tisular. Toda la serie tumoral es analizada a la vez, de modo que se garantiza la homogeneidad de las técnicas entre las muestras y se evitan los sesgos (8-15).

En la etiología del cáncer colorrectal se considera que participan múltiples factores. Es posible que exista una interrelación entre factores ambientales y constitucionales en su etiología y que la importancia de unos u otros varía según los individuos. Por tanto, ni un factor ni una serie de ellos serán la base en todos los casos de cáncer colorrectal. El cáncer es en último término una alteración a nivel genético. La fase inicial puede que en algunos casos sea constitucional, como, por ejemplo, la herencia de un gen supresor mutado como ocurre en el síndrome de la poliposis múltiple. De forma alternativa, la iniciación puede ser adquirida a través o bien de una mutación espontánea, o por la acción de mutagenes ambientales. Nuevas mutaciones e influencias promocionales actuarían en el proceso de «etapas múltiples» que conducen a la formación de una neoplasia maligna.

INCIDENCIA

En las últimas décadas la mortalidad por cáncer ha mantenido un aumento progresivo en nuestro país. A mediados del siglo pasado, se producían anualmente 20.000 muertes por cáncer, actualmente este número se ha cuadruplicado, mientras que las tasas brutas casi se han triplicado, pasando del 80 por 100.000 habitantes en 1951, a 228 por 100.000 habitantes en 1998. Junto a este incremento de su incidencia están cambiando las tasas de mortalidad por los diferentes tipos de tumores (tabla I). Especialmente preocupante es el aumento significativo en los varones de las tasas de mortalidad por cáncer, que se han atribuido en gran parte al aumento en la incidencia del cáncer de pulmón. En contraste, en las mujeres está disminuyendo ligeramente la incidencia de mortalidad debido en gran parte a la caída en la mortalidad de cánceres como el de útero, estómago y colon (7).

CARCINOGENESIS COLORRECTAL

Prácticamente todos los carcinomas colorrectales muestran alteraciones genéticas, cuyo estudio está permitiendo en gran parte, comprender el mecanismo general de la carcinogénesis como una alteración genética no letal. Actualmente se aceptan dos mecanismos patogénicos diferentes en la aparición del cáncer colo-rectal, ambos, se caracterizan por la suma de múltiples mutaciones. Si bien, los mecanismos como actúan y los genes que intervienen son diferentes.

La primera vía, denominada la vía APC/B-catenina, está caracterizada por la existencia de una inestabilidad cromosómica que da lugar a la acumulación de mutaciones en diferentes oncogenes o genes supresores. La evolución molecular del cáncer de colon por esta vía ocurre a través de una serie de estadios morfológicos identificables. En la etapa inicial hay una proliferación epitelial localizada que se sigue por la formación de pequeños adenomas que aumentan progresivamente de tamaño. Adquieren diferentes grados de displasia y finalmente se transforman en cánceres infiltrantes. Esta vía fue definida por Morson como la secuencia adenoma-carcinoma y se basa en las siguientes observaciones (12):

1. Las poblaciones con una elevada prevalencia de adenomas tienen también una alta incidencia de cáncer colorrectal y viceversa.
2. La distribución de los adenomas en el colon y el recto es más o menos comparable a la del cáncer colorrectal.
3. La incidencia máxima de los pólipos adenomatosos precede en algunos años al pico de incidencia del cáncer colorrectal.
4. Cuando se identifican carcinomas infiltrantes en estadio precoz, suele encontrarse tejido adenomatoso en su alrededor.
5. El riesgo de cáncer es directamente proporcional al número de adenomas, de ahí la certeza prácticamente total de que los pacientes con síndromes de poliposis familiar van a desarrollar un cáncer.
6. En los programas con seguimiento regulares de los pacientes para detectar el desarrollo de adenoma y extirpar todas los sospechosos reducen la incidencia de cáncer colorrectal.

Los procesos genéticos que se producen en esta vía son los siguientes:

Pérdida de gen supresor de los tumores APC. Se considera como el suceso inicial en la formación de los adenomas. En los síndromes de la poliposis adenomatosa familiar (PAF) y el de Gardner, una mutación en la línea germinal en el gen APC da lugar a la aparición de cientos de adenomas que progresan en pocos años a cánceres invasivos. Para que aparezcan los adenomas se necesita que se pierdan ambas copias del gen APC. Las funciones de la proteína APC están íntimamente relacionadas a la B-catenina normal. En condiciones normales promueve la degradación de la B-catenina; cuando hay una pérdida de la función del gen APC, la acumulación de B-catenina se traslada al núcleo y activa la transcripción de diferentes genes tales como el MyC y la ciclina D1, que promueven la proliferación celular. En el 80 % de los cánceres esporádicos de colon existe una mutación en el gen APC. Por tanto, se considera que el primer golpe se produce como consecuencia de una pérdida de una copia normal del gen supresor APC. De hecho, las personas que nacen con un alelo mutante de este gen son más propensas a desarrollar cánceres de colon. El segundo golpe sigue con la pérdida de la copia normal del gen APC. El siguiente paso parece ser una mutación en el gen K-ras, a los que se suman mutaciones adicionales de los genes supresores de los tumores DCC y

TP53, que conducen a la aparición de un carcinoma en el que ocurren nuevas mutaciones. Es conveniente señalar que aunque ésta parece ser la secuencia temporal, la acumulación de múltiples mutaciones es más importante que el orden en que éstas se producen. /5, 1,14)

El gen K-ras es el oncogen activado que con mayor frecuencia se observa en los adenomas y en los cánceres de colon. El K-ras activado (cromosoma 12p 12) interviene en la traducción de la señal intracelular que inicia la mitosis y previene la apoptosis. Se encuentra mutado en menos del 10 % de los adenomas que tienen un tamaño menor de 1 cm. En el 50 % de los mayores de 1 cm. y en el 50 % de los carcinomas.

Una pérdida alélica común en el cáncer de colon que afecta al cromosoma 18q 21 se produce en el gen DCC (deleted in colon cancer). La proteína que codifica este gen, una molécula de adherencia celular, se expresa ampliamente en la mucosa del colon. Sin embargo, la expresión se reduce o falta por completo en el 70 a 75 % de los cánceres, con la consecuencia habitual de pérdida de heterogeneidad en esta región del cromosoma 18q.

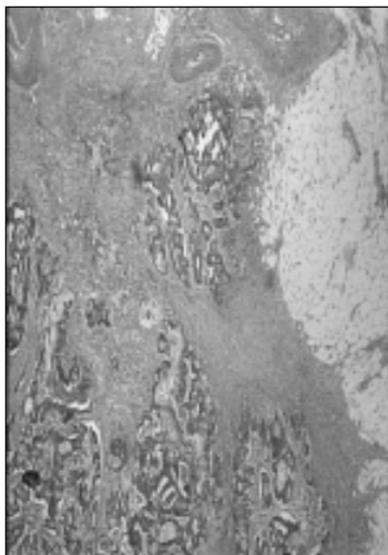
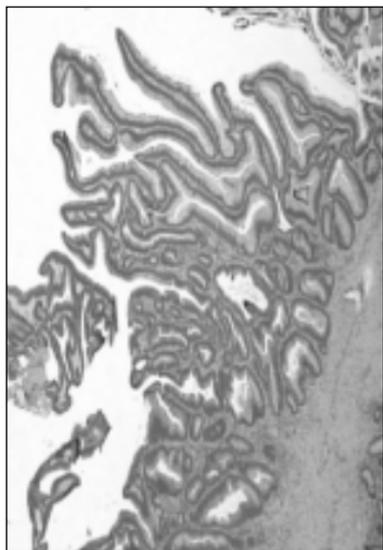
En el 70 a 80 % de los cánceres de colon se encuentran pérdidas en el cromosoma 17p, mientras que dichas pérdidas son poco frecuentes en los adenomas. Estas deleciones cromosómicas afectan al gen P53, lo que indica que las mutaciones de éste gen aparecen tardíamente en la carcinogénesis del colon (17).

La segunda vía está caracterizada por una lesión genética en los genes «ADN mismatch repair genes». Está presente en el 10 al 15 % de los cánceres esporádicos. Se caracteriza, al igual que en la vía anterior, por la acumulación de múltiples mutaciones, pero los genes afectados son diferentes y no hay una clara correlación morfológica. El suceso fundamental en ésta vía es una reparación anormal del ADN originada por una inactivación de los genes DNA mismatch repair gens. Mutaciones heredadas en estos genes son los responsables de los carcinomas de colon heredados en paciente sin poliposis. De estos genes el MMLH-1 es el que afecta de forma mas frecuente en las formas esporádicas de carcinoma de colon. La pérdida de los genes que reparan el ADN conducen a un estado hipermutable en la que los microsátélites son inestables durante la replicación del ADN y dan lugar a extensas alteraciones en estas secuencias repetitivas. La señal que indica un defecto en los DNA mismatch repair gens, es la aparición de inestabilidad en los micro-

satélites, que conducen a la acumulación de mutaciones que culminan en la aparición del cáncer colorrectal.

Aproximadamente el 50 % de los pacientes que han tenido una «cirugía curativa» por cáncer de colon fallecerán debido a una recidiva de la enfermedad. La explicación que se admite actualmente como más posible, es que en el tiempo de la cirugía, existían ya metástasis hepáticas. Una de las metas fundamentales al establecer los factores pronósticos en los pacientes que se someten a una cirugía curativa por cáncer colorrectal, son aquellos que permiten distinguir entre los pacientes que son curados y los que tienen una enfermedad residual oculta. A este ideal se consigue llegar identificando aquellos variables que tienen una influencia importante e independiente sobre la supervivencia. Los modelos pronósticos que se utilizan actualmente se basan en el grado de diferenciación de las células tumorales, en el número de ganglios linfáticos afectados, en la extensión de la invasión directa, en el carácter de los márgenes invasivos y en la presencia de un infiltrado linfocítico peritumoral (9) (Fig. 1-2).

La clasificación de Dukes fue introducida en 1928 en el St. Marcks Hospital de Londres y desde entonces se reconoce su importancia para establecer el pronóstico en el cáncer colorrectal. El estadio A, en el que se encuentran el 15 % de los cánceres operables, la infiltración tumoral se extiende a través de la muscular de la mucosa hacia la pared, pero sin ir más allá de la muscular propia y sin que se observen



FIGURAS 1 y 2.

metástasis en los ganglios linfáticos. La supervivencia a los 5 años es prácticamente del 100 %. En el estadio B de Dukes, el 35 % de los casos operados, el crecimiento invade los tejidos peri-rectales o pericólicos en continuidad, pero sin que existan metástasis ganglionares. Alrededor del 75 % de los enfermos en estadio B se curan de su enfermedad. En el estadio C, independientemente del grado de infiltración de la pared, hay metástasis en los ganglios linfáticos. En este estadio el porcentaje de supervivencia a los 5 años es inferior al 35 % y el 50 % de los enfermos operados se encuentran en este estadio (3).

Una de las líneas de investigación que estamos siguiendo en el laboratorio de Patología Molecular que dirige el Dr. Sanz Ortega, es el estudio de «Marcadores Predictores» de metástasis a distancia en el cáncer colorrectal, mediante la determinación de marcadores moleculares utilizando el método de «Tissue arrays».

La finalidad última de nuestro trabajo es, mediante el estudio de marcadores moleculares, establecer dos grupos de pacientes con cánceres de colon que se encuentran en estadio T2 N0, con un riesgo biológico diferente a desarrollar metástasis.

Hemos hecho un estudio retrospectivo de 85 cánceres de colon que se encontraban en estadio T2 N0; en 52 de estos casos no existía evidencia de metástasis tras un seguimiento entre 6 y 12 años, y 33 tenían evidencia de metástasis a lo largo de su seguimiento. Para la realización del Tissue-array se seleccionaron dos cilindros de 1 mm de diámetro procedentes del tumor y se utilizó el método estándar de nuestro laboratorio para el estudio inmunohistoquímico (Fig. 3). Seleccionamos 30 proteínas que intervienen en el ciclo celular, que son factores reguladores de la angiogénesis o del crecimiento, moléculas de adhesión o que inhiben la apoptosis y moléculas que intervienen en la reparación celular (Tabla II, 6-13-4)

En nuestros resultados observamos que una alta expresión en los tumores primarios de Survivina (> 50%), Ki67 (50 %), Topoisomerasa II (> 50%), CD K1 (> 10 %) y una baja expresión nuclear de P16 se asocian estadísticamente ($p < 0,05$) con la aparición de me-

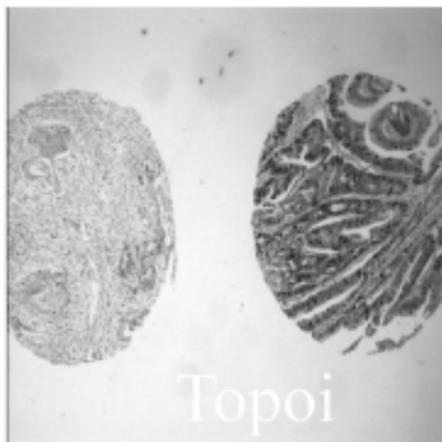


FIGURA 3.

Protein	clone	Source	Dilut	Reactiv.	Threshold	p
Ki67	MIB1	DAKO	1.100	High/low	>50%cells	0.02
Survivin	Polycl	RD sys	1.1500	High/low	>50%cells	0.05
CyclinA	6E6	Novocastra	1.100	+/-	10%cells	0.75
CyclinB1	7A9	Novocastra	1.25	+/	>10%cells	0.67
CyclinD1	DCS6	DAKO	1.100	+/	>10%cells	0.22
CyclinD3	DCS22	Novocastra	1.10	+/	>10%cells	0.57
CyclinE	13A3	Novocastra	1.10	+/	>10%cells	0.43
CDK1	1	Transd Lab	1.1500	+/	>10%cells	0.04
CDK2	8D4	Neomarker	1.500	+/	>10%cells	0.91
P53	DO7	Novocastra	1.50	High/low	>80%cells	0.27
P21	EA10	Oncogene	1.50	High/low	>50%cells	0.10
P16	POLIC	SantaCruz	1.50	High/low	>50%cells	0.01
P27	57	Transd Lab	1.1000	High/low	>50%cells	0.36
Hdm2	IF2	Oncogene	1.10	High/low	>50%cells	0.59
Rb	C3245	BD Ph.	1.250	High/low	>50%cells	0.17
Topoisomerasa II	Ki-s1	Dako	1.50	High/low	>50%cells	0.04
VEGF		BBiogenex	1.100	High/low	>80%cells	0.47
EGFr	113	Novocastra	1.25	High/low	>80%cells	0.07
HER2/neu	POLY	DAKO	1.200	High/low	>80%cells	0.91
ECadherin	4A2C7	ZYMED	1.200	High/low	>50cells	0.82
P120	98	Trand Lab	1.500	High/low	>50%cells	0.39
Bcl2	124	DAKO	1.25	High/low	>50%cells	0.43
Caspase3a	C92-	Bd PH	1.25	High/low	>50%cells	0.76
APOPTAG*		iINTERG.		+/-	>20%cells	0.14
G-Catenin	15	Transd Lab	1.1000	High/low	>50%cells	0.34
MLH1	G168	Pharming	1.100	High/low	>50%cells	0.37
MSH2	FE11	Oncogene	1.100	High/low	>50%cells	0.32
CatepsinD	DB200	DAKO	1.25	High/low	>50%cells	0.29

TABLA II.

tástasis. Por que el análisis simultáneo de estos 5 marcadores puede tener una aplicación potencial como un indicador pronóstico para determinar que pacientes que están en un estadio T2 N0 tienen un riesgo mayor de presentar metástasis en el curso de su evolución después de la cirugía y por tanto requerirán una terapia coadyuvante con quimio o radioterapia. (2-11).

BIBLIOGRAFÍA

1. BEHSEN, S.; VON KRIES, S.P.; KUHLM, *et al.*: «Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1». *Nature* 1996, 382: 638-642.
2. CHIOU, S.K.; JONES, M.K.; TARNAWSKI, A.S.: «Survivin an anti-apoptosis protein: its biological roles and implications for cancer and beyond». *Med Sci Monit* 2003, 9 (4), 25-29
3. DUKES, C.: «The classification of cancer of reactivities». *S. Pathol Bacteriol* 1932, 35: 323-332.
4. FERNÁNDEZ ACEÑERO, M. J.; GALINDO, M.; SANZ, J.: «Prognostic influence of tumor-associated eosinophilic infiltrate in colorectal carcinoma». *Cancer* 2000; 196 (9): 607-12
5. FODDE, R.: «The APC gene in colorectal cancer». *European Journal of cancer*. 2002; 38: 867-871.
6. GALINDO, M.; FERNÁNDEZ ACEÑERO, M. J.; SANZ ORTEGA, J., *et al.*: «Vascular enumeration as a prognosticator for colorectal carcinoma». *Eur. J. Cancer* 2000; 36 (1): 55-60.
7. GREENLEE, R. T.; MURRAYT BOLDAS, S.; WINGO, P. A.: «Cancer statistics 2000», *Ca Cancer S. Clin* 2000; 50: 7-33.
8. HOOS, A. AND CORDON CORDO, C.: «Tissue microarray profiling of cancer specimens and cell lines: opportunities and limitations». *Lab Invest* 2001; 81(10): 1331-1338.
9. KICKEN, S. M.: «Past, present and future perspectives of colorectal cancer-on the brink of a new era?». *European Journal of cancer* 2002; 38: 855-857.
10. LIEFERS, G. S.; TOLLENAAR, R. A.: «Cancer genetics and their application to individualised medicine», *European Journal of cancer*, 2002; 38: 872-879.
11. LINF, L.S.; ZHENG, C. QM. SIN Y.; SIANG, W.G., M. A T.: «Expression of survivin protein in human colorectal carcinogenesis». *World S Gastroenterol* 2003; 9 (5): 974-977.
12. MORSON AND DAWSON'S: *Gastrointestinal Pathology*. Blackwell Publishing 2003.
13. SANZ ORTEGA, J.: «Comparative study of tumor angiogenesis and immunohistochemistry for p53, ErbB2, c-myc and EGFr as prognostic factors in gastric cancer». *Histol Histopathol*. 2000; 15: 455-462.
14. SPAARKS, A.B.; MORIN, P.S.; VOGELSTEIN, B.; KINGLER, K.W.: «Mutation analysis of the APC/beta-catenin/Tcf pathway in colorectal cancer». *Cancer Res* 1998; 58: 1130-1134.

15. THORHORST, S., *et al.*: «Tissue microarrays for rapid linking of molecular Changes to clinical end points». *Amb. S. Pathol*, 2001; 159 (6): 2249-2256.

INTERVENCIONES

Prof. Blázquez Fernández

Ante todo unas palabras de felicitación al Prof. Julián Sanz Esponera por su brillante disertación sobre un tema de gran importancia y actualidad. Con la aplicación de técnicas como la hibridación *in situ*, inmunocitoquímica, «microarrays» y otras también relacionadas con la Biología Molecular al estudio de los tumores, se está obteniendo mucha información acerca de la expresión génica de las células tumorales y de las mutaciones de los protooncogenes, genes supresores de tumores y de otros genes implicados en el ciclo y la apoptosis celulares. Dado que para que una célula llegue a ser cancerígena se necesitan al menos seis mutaciones de genes y esto requiere un período de tiempo significativo, las transiciones que experimentan estas células hasta su malignización son de gran interés para la investigación científica actual. Especialmente la transición de la polipomatosis y adenomas hasta cáncer de colon de las que nos ha hablado el Prof. Julián Sanz Esponera representan un buen modelo para la investigación de estas entidades patológicas. Por ello me gustaría conocer si han realizado estudios en esta dirección o los tienen diseñados para un futuro próximo.

Prof. Lucas Tomás

Debo decir, Prof. Sanz Esponera, que he quedado fascinado por los datos que nos ha proporcionado en esta conferencia, en relación al cáncer colo-rectal.

Especialmente, me ha llado la atención su consideración acerca de la carcinogénesis o de la etiopatogenia del carcinoma colo-rectal que nos ha presentado. Concretamente cuando demuestra con sus experiencias que el 85 % de estos tumores siguen la secuencia adenoma-carcinoma, es decir, polipo-adenocarcinoma, mientras que solamente el 15 % está en relación con la disfunción de genes reguladores de ADN.

En este grupo reducido, en el que entran en función los genes reguladores de ADN, es de interés de ver como el Gen KRAS y los ligados al cromosoma 16, como puede ser el de la P53, tienen un valor significado en este tipo de tumores.

Si me han llamado la atención sus consideraciones acerca de la etiopatogenia del carcinoma colo-rectral, me han interesado más sus comentarios acerca de la prospectiva terapéutica y especialmente con marcadores que puedan identificar la capacidad metastásica de estos tumores. También me parece muy interesante que estos marcadores de metástasis estén en relación con la P51 y la P16. Todo esto demuestra que el avance dado no sólo es en la etiopatogenia, sino también en poder programar el tratamiento específico o la carta, como ahora se dice. Es uno de los avances más interesantes en los que usted está involucrado.

Después de estas consideraciones, me gustaría poder oírle si tiene experiencia o existe alguna relación sobre la posibilidad de que suceda lo mismo en la parte proximal del tubo digestivo. Al igual de lo que pasa con el carcinoma colo-rectal, pudiera existir también en el cáncer oro-faríngeo una carcinogénesis similar. Recuérdese que en esta zona proximal del tubo digestivo también hay lesiones precancerosas. Y si la misma secuencia de la carcinogénesis que nos ha comentado en el cáncer colo-rectal pudieran darse en la zona oro-faríngea, es decir, la secuencia leucoplasia-carcinoma epidermoide.

Prof. Espinós Pérez

Me levanto para felicitar al Prof. Julián Sanz Esponera. Nos ha presentado una comunicación de alto nivel científico y de una gran trascendencia y aplicabilidad futura en el campo de la Oncología.

El Prof. Sanz, en los últimos años, nos ha expuesto varias comunicaciones sobre la moderna «morfopatología molecular». Sus trabajos, sus comunicaciones, han ido alcanzando cada vez mayor nivel, como la que hoy nos ha presentado en la Real Academia. Ha incorporado tecnología puntera, que nos llena de satisfacción a todos por ser un trabajo realizado por un Académico de nuestra Real Academia.

Nos ha comentado el largo camino de la transformación maligna de las células, pasando por distintas fases, cada vez con mayor displasia, hasta llegar al punto en el que se alcanza el estado de

irreversibilidad. Esta célula tiene todos los atributos propios de una célula maligna, que es su multiplicación, su capacidad de invasión y su capacidad de metastatización.

Es, quiero señalarlo, un mensaje de esperanza y de gran tranquilidad el reconocimiento que hace el Prof. Sanz a la aparición del cáncer en relación con determinados estilos de vida. Es evidente, por tanto, que una prevención, una mejora en la calidad del estilo de vida, como la supresión del tabaco, reducción de la ingesta de grasas, produce una reducción de la enfermedad cancerosa. Por otro lado, también nos ha puesto de manifiesto como la curabilidad del cáncer va proporcional a la rapidez en el diagnóstico, subrayando la importancia del «diagnóstico precoz» para la lucha frente a esta grave enfermedad.

Yo le quiero comentar al Prof. Sanz dos aspectos, uno, que es una pregunta, ¿cuál cree Vd. que es el papel que juega la inflamación en la determinación o en la evolución de las células hacia la célula maligna? Porque ya sabemos que la utilización de antiinflamatorios no esteroideos, tanto los anti-COX-1, como los anti COX-2 se utilizan como relativo éxito, para la prevención de la enfermedad maligna del colon aparecida sobre los pólipos del mismo. ¿Cuál es su idea sobre este aspecto?

La otra pregunta va en relación al tema importante y trascendental, que es el núcleo fundamental de su exposición de esta tarde. Si el cirujano extirpa la zona del colon afectada por el tumor, ¿por qué unos tienen metástasis al poco tiempo y otros no la tienen? Mi pregunta es: cuando el cirujano realiza la extirpación de este tipo de tumor, con estos marcadores de alta malignidad, ¿ya existen las metástasis o las metástasis aparecen posteriormente como consecuencia de reactivaciones de células de alta malignidad en el tracto digestivo?

Le felicito por esta interesantísima comunicación y por el nivel científico que ha alcanzado su grupo, entre los que quiero subrayar la presencia del Dr. Sanz Ortega.

ANGIOGÉNESIS Y VASCULOGÉNESIS CARDÍACA

ANGIOGENESIS AND HEART VASCULOGENESIS

Por el Excmo. Sr. D. JUAN JIMÉNEZ COLLADO

Académico de Número

Resumen

El primer esbozo de vascularización arterial coronaria se establece en embriones humanos del estadio 14 de O'Rahilly a partir de islas endoteliales que contienen densas formaciones de eritoblastos, que no presentan conexión con la cavidad ventricular dispuestos subepicárdicos. La presencia de este primitivo plexo está en íntima dependencia con la Jalea acelular de Davies y no con el aumento y estructuración del miocardio.

Cada arteria coronaria se desarrolla a partir de dos anlagen: uno distal que los hace a partir de la red subepicárdica, y otro proximal procedente de la evaginación del endocardio de los senos Valsalva.

El período final del proceso de fusión de ambos anlagen y por consiguiente la determinación del patrón vascular coronario, queda establecido en el estadio 20 de O'Rahilly.

Abstract

The first sketch of coronary arterial vascularization settles down in human embryos of the stadium 14 of O'Rahilly starting from endothelial islands that contain dense eritoblastes formations that don't present connection with the cavity ventricular willing subepicardial. The presence of this primitive plexus is in intimate dependence with the Jelly acelular of Davies and not with the increase and structuring of the myocardium.

Each coronary artery is developed starting from two anlagen: one distal that makes it starting from the net subepicardial, and another proximal coming from the evagination of the endocardium of the breasts Valsalva.

The final period of the process of coalition of both anlagen, and consequently the coronary vascular pattern's determination, it is established in the stadium 20 of O'Rahilly.

La regulación del crecimiento vascular es en la actualidad una excitante área de la Biología del Desarrollo; el mecanismo final de la organogénesis vascular se basa en dos procesos: vasculogénesis y angiogénesis. Aunque la angiogénesis es para algunos considerada como determinante en el mecanismo de neovascularización, angiogénesis y vasculogénesis se encuentran integradas en el establecimiento de la vascularización cardíaca en los iniciales estadios diferenciativos del período embrionario.

En la vasculogénesis, los precursores endoteliales se integran y armonizan para formar vasos; los tejidos vascularizados por este proceso generalmente son de origen endodérmico, mientras que el proceso de angiogénesis, que en síntesis consiste en la diferenciación de brotes vasculares a partir de vasos preexistentes que vascularizan tejidos de origen ecto-mesodérmico.

La diferenciación morfológica y bioquímica del corazón acontece de modo rápido en los estadios iniciales del desarrollo. La formación de un corazón tubular es uno de los eventos más precoces de la embriogénesis en los vertebrados con la específica característica que la adquisición de la función precede a la morfogénesis completa; no obstante, el desarrollo cardíaco es el resultado conjunto de múltiples procesos fundamentales que no se pueden entender analizando un único instante determinado; por el contrario, los procesos que determinan y desarrollan la formación cardíaca, son dinámicos, secuenciales, progresivos, interrumpidos e irreversibles. Por ello, la integración e interrelación temporo-espacial de los diferentes componentes cardíacos, define la forma y función de una estructura vascular en modo especial adaptada y en gran modo dependiente en su dispositivo estructural final a específicos requerimientos dinámicos.

La «decisión» molecular en determinar células embrionarias pluripotenciales a una vía cardiogénica, se establece en el inicio de la gastrulación coincidiendo con la presencia de la línea primitiva Orts Llorca, 1963; Jiménez Collado, 1974-1976-1977; García Martínez-Schoenwolf, 1993; Austin y cols., 1994. En las aves, las células mesodérmicas con capacidad diferenciadora a células endocárdicas o miocárdicas, se localizan en la mitad rostral de la línea primitiva con identidad axial en relación del eje antero-posterior. Orts Llorca, 1964; Jiménez Collado, 1981-1986; Inagaki y cols., 1993, inmediatamente por detrás del nudo de Hensen, estructura ésta homóloga a la región dorsal del blastoporo de los anfibios y al que se le reconoce como

«centro organizador de Spemann» (Jacobson y Sater, 1988), ya que esta región o centro, así como el contacto con el endodermo, es necesario y llave constante en los mecanismos del desarrollo para dirigir células mesodérmicas en fase de gastrulación a una vía cardiogénica (Sater y Jacobson, 1990; Nascone y Mercola, 1995). En embriones de aves, cuyo abordaje analítico y experimental es fácil y regulable a la vez que presenta similitud en los estadios iniciales con gran número de vertebrados (Jiménez Collado, 1981), se ha evidenciado cómo en el estadio de línea primitiva —prolongación cefálica el nudo de Hensen libera ácido retinoico (Chen y cols., 1992), morfógeno del que se conoce su influencia sobre los patrones de formación y diferenciación (Dresh y Lile, 1993). La presencia de receptores de ácido retinoico en células mesodérmicas seleccionadas como «linaje cardiogénico» es consistente con el papel que realiza este morfógeno en dirigir o especificar mesodermo a corazón (Smith, 1994). Puesto que receptores de ácido retinoico funcionan como factores de transcripción (Gabas, 1992), es posible que la individualidad genética regule o module parte de este mecanismo aun no dilucidado de la especificación del linaje cardíaco.

Una vez establecido el tubo cardíaco, se configura un proceso morfogénico mediante el cual el miocardio definitivo se organiza (Vivagh y col., 1989; Coffe y Poole, 1991). El tubo endocárdico aparece ya envuelto por epitelio premiocárdico procedente de cada campo de fusión; el contacto y fusión de estos dos epitelios premiocárdicos se establece dorsal y ventralmente, hecho que da como resultante la formación del mesocardio dorsal y ventral, este último —mesocardio ventral— estructura transitoria de función desconocida al contrario que el mesocardio dorsal, del que en gran parte y conjuntamente con mesénquima extracardiaco dará origen al órgano preepicardio, estructura mesotelial localizada entre el esbozo hepático y seno venoso. Es a partir de este proepicardio cuando se origina y establece la vía por la que el mesénquima extracardiaco migrará sobre la superficie del tubo endo-miocárdico para formar el epicardio —futuro pericardio visceral— (Urancken Peeters y col. 1995). El mesénquima epicárdico emigrado contribuye con progenitores —endotelio y músculo liso— en la vascularización coronaria (Poelmann y col. 1993; Mikawa y Gourcier, 1995); por ello, la fusión de los campos o áreas cardíacas no sólo establece el definitivo tubo cardíaco, sino también actúa como fuente de su propio mesénquima vasculogénico.

El tubo cardíaco inflexionado y con dilataciones y estrecheces, estructuralmente aparece configurado en esta fase del desarrollo por dos láminas o formaciones concéntricas —endocardio y epimiocardio—, así como por una matriz extracelular dispuesta no regularmente entre ambas formaciones —jalea de Davies o gelatina cardíaca—, que en los niveles o segmentos aurículo-ventricular y cono-truncal aumenta en contenido. Considerada clásicamente acelular con un papel pasivo en la morfogénesis cardíaca, en la actualidad han sido aisladas alrededor de 50 proteínas en los niveles de mayor condensación mediante electroforesis bidimensional en gel (Runyan y Markwald, 1983), la mayor parte secretadas por el miocardio, lo que sugiere que la gelatina o jalea de Davies representa la membrana basal miocardia (Kitten y col., 1995), incluyéndose entre sus componentes colágenos, fibronectina, hialuronato, fibrina, proteoglicanos, factores de crecimiento. Durante estos estadios iniciales del desarrollo, la estructura del tubo cardíaco es simple, por consiguiente, la presencia de la circulación coronaria es innecesaria; no obstante, el establecimiento del sistema vascular cardíaco se realiza en un período relativamente temprano del período gestacional, caracterizado por la diferenciación de células precursoras —angioblastos—, en elementos formes y células endoteliales. La ulterior definición de tubos endocárdicos se realiza más tardíamente, observándose en la especie humana en la tercera semana, seguida o simultánea con la presencia de la jalea acelular de Davies y formación del epimiocardio.

Las células del tubo cardíaco reciben directamente su nutrición de la cavidad ventricular, cuando el miocardio inicia su trabeculización, no existe una circulación coronaria y es sólo a partir de la cuarta semana cuando los brotes vasculares aparecen constituyendo el primer esbozo de la formación vascular coronaria, proceso, no obstante, aún hoy en día no bien conocido.

Por regla general, en los vertebrados la progresiva trabeculización del miocardio da origen a un sistema sinusoidal o laberíntico (Lewis, 1904), que adquiere la capacidad de representar y establecer un sistema nutriente para los miocitos y jalea de Davies que van incorporándose al primitivo tubo endocárdico; sin embargo, este sistema sinusoidal no constituye en sentido estricto un sistema circulatorio, su estructura sólo permite la difusión de elementos sanguíneos propulsados por las cada vez más frecuentes contracciones y ritmos del miocardio. El desarrollo de canales vasculares se relaciona íntima-

mente con el incremento de la cada vez más compacta capa miocárdica.

Este concepto de sistema sinusoidal temporal seguido del establecimiento y sustitución por circulación coronaria, representa un avance en la escala filogenética, ya que, por ejemplo, en los peces se mantiene el sistema sinusoidal que es progresivamente sustituido en los anfibios, en los que ya la formación trabecular aparece mejor y más definida a nivel ventricular, aunque los vasos de Tebesius, vestigio de la circulación sinusoidal, son constantes a modo de cortocircuitos entre ambas redes vasculares.

La importancia del epicardio en el establecimiento de la microcirculación cardíaca es hoy prácticamente aceptada, habida cuenta que «brotes vasculares» o «nidios vasculares» epicárdicos constituyen la evidencia más precoz del sistema vascular coronario en el hombre y en otros vertebrados y mamíferos.

No obstante, el criterio que los capilares proceden o son formaciones tubulares originadas del endotelio endocárdico se ha mantenido tiempo (Rychter y col., 1971; Voboril, A. y col., 1969; Viragh, S. y Challice, C.E., 1981. Sin embargo, recientemente Mikawa, T., y Fischmann, D., 1992, mediante inyecciones de retrovirus han evidenciado el origen diferente de estas dos formaciones vasculares—endotelio coronario y endotelio endocárdico—, resultados idénticos a los obtenidos por Viragh, S. y col., con el empleo del anticuerpo PH₁ y (Poelmann y col., 1993), mediante el marcaje con anticuerpos en las quimeras pollo-codorniz. En embriones humanos en estadios precoces, Hirakow, R., 1983; Huchchins, G.M., 1988, describen la presencia de conglomerados o islas angioblásticas subepicárdicas a distancia y sin conexión con el lumen ventricular, dispuestas primero a nivel del ápex ventricular y en el surco interventricular y secuencialmente en el surco atrio-ventricular, observaciones éstas que coinciden in loco con la disminución e incluso desaparición de la jalea acelular en embriones humanos de 28 a 30 días.

Relativamente pocos son los estudios realizados sobre la vasculogénesis cardíaca en embriones humanos (Tandler, 1908; Yutama, 1940; Orts-Mari, 1944; Vallejo, 1967; Jiménez Collado, 1970; Sissman, 1970; Cooper y O'Rahilly, 1971; Licata, 1959-62; Conte y Pellegrini, 1984; Hirakoff, 1983; Hubchings y col., 1988, frente a la numerosa información detallada de la organogénesis cardíaca analizada de modo tanto descriptiva como experimental en otras especies de mamíferos, recogidas en síntesis en las amplias y minucio-

sas publicaciones de Cooper y O'Rahilly, 1971; Dehann y O'Rahilly, 1978.

En embriones de 5,5 mm., estadio 14 de O'Rahilly, hemos descrito la presencia constante aunque en número variable de islotes sanguíneos como estructuras aisladas e independientes sin conexión con la luz ventricular a nivel del apex ventricular, surco intraventricular y secuencialmente en el surco atrio-ventricular. Su presencia coincide con la desaparición de la jalea acelular de Davies, hecho éste que destacamos, por cuanto sólo Grover, M.; Hutchins, M. D. y Abigail Kessler-Hanna, M. D., 1988, hacen mención. En efecto, según nuestras observaciones y como consecuencia de haber establecido mediciones de las diferentes capas cardíacas y su correspondencia con el estadio del desarrollo embrionario, llegamos a las siguientes conclusiones.

<i>Estadio O'Rahilly</i>	<i>Tamaño</i>	<i>Endocardio/ epicardio</i>	<i>Grosor jalea</i>	<i>Grosor miocardio</i>
10	2,5 + 0,8 mm.	98 micras	82 micras	16 micras
11	3,2 + 0,8 mm.	111 micras	89 micras	22 micras
12	3,6 + 0,7 mm.	190 micras	138 micras	52 micras
13	4,9 + 0,7 mm.	128 micras	70 micras	58 micras
14	6,5 + 0,9 mm.	63 micras	14 micras	59 micras
15	7,8 + 1,1 mm.	56 micras	0 micras	56 micras
16	9,6 + 1,5 mm.	79 micras	0 micras	79 micras
17	12,4 + 1,2 mm.	87 micras	0 micras	91 micras
18	15 + 1,5 mm.	99 micras	0 micras	99 micras

Es, pues, evidente en base a nuestras observaciones en las que si bien han sido realizadas las mediciones en tres embriones de cada estadio, existe una precisa correlación y dependencia entre la desaparición de la jalea acelular de Davies y la presencia de los brotes o islas de eritoblastos en la superficie cardíaca.

Estudios mediante microscopía electrónica confirman cómo estas islas o nidos vasculares están formados por células precursoras endoteliales —eritoblastos— (Rongish, B. J., 1994; Obrunick, M., 1972), carácter que es común en nuestros embriones de 5,5 mm., Estadio 14 de O'Rahilly.

Hemos descrito en embriones de 5,5 mm., Estadio 14 de O'Rahilly, la presencia de acúmulos subepicárdicos primero aislados y distantes, densos y sin luz, histológicamente formados por eritoblastos envueltos por una delgada y continua lámina de endotelio, es-

tán situados primero en el surco interventricular y apex que van progresivamente aumentando en número para topográficamente irse disponiendo en dos sistemas o redes, localizados uno en la porción posterior así como anterior y derecha del surco atrioventricular, surco interventricular posterior, superficie diafragmática de los ventrículos y superficie anterior y derecha del ventrículo derecho y bulbus, mientras que al otro sistema o red subepicárdica, menos numerosa y diferenciada, se sitúa en el surco interventricular anterior, pared anterior ventricular y porción anterior e izquierda del surco atrioventricular. En base a esta configuración, que interpretamos como anlage del futuro patrón arterial coronario, denominamos a la primera *red subepicárdica derecha-posterior* al considerar que a partir de ella se establecen las ramas de la arteria coronaria derecha; la segunda red subendocárdica la denominamos *red subepicárdica izquierda-anterior*, al considerar que configura el patrón de distribución de la futura arteria coronaria izquierda.

En embriones humanos de 7,5-8,9 mm., Estadio 15-17 de O'Rahilly, observamos el inicial crecimiento a partir del truncus de múltiples evaginaciones, tanto a nivel aórtico como pulmonar a nivel de las cúspides del primordio de las válvulas semilunares. En embriones de 12,5 mm., Estadio 17 de O'Rahilly, sólo dos de las evaginaciones endoteliales que crecen de las paredes derecha e izquierda aórtica, mantienen y aumentan su ritmo de crecimiento y diferenciación, conectando en embriones de 15 mm., Estadio 18 de O'Rahilly, con los brotes vasculares subepicárdico posterior derecho y anterior izquierdo para así completar el desarrollo binodal de las arterias coronarias.

Existe una observación que consideramos no había sido antes lo suficientemente comentada y es que el mecanismo o proceso de conexión aorta-red vascular subepicárdica, se realiza y establece específicamente en un determinado estadio. En efecto, los embriones de 12 mm., estadio 17 de O'Rahilly, no mostraron evidencia alguna de crecimiento endotelial y, por tanto, contacto de la red subepicárdica prearterial coronaria con aorta; sin embargo, en embriones de 13,5 mm., Estadio 18 de O'Rahilly, asistimos por vez primera siempre y de modo constante al origen selectivo de las evaginaciones de los senos de Valsalva y su aproximación/conexión con el plexo coronario subepicárdico.

No hemos observado fases intermedias en la formación de esta interconexión; existía o no existía conexión, pero no fase puente. Por

tanto, el mecanismo íntimo como la naturaleza anatómica del establecimiento de este proceso permanece aún incierta y especulativa.

INTERVENCIÓN DEL PROF. ESPINÓS PÉREZ

El Prof. Jiménez Collado nos ha expuesto una brillantísima y además bonita comunicación. La iconografía presentada, toda obtenida por él y por su grupo de investigación es realmente excepcional. Le felicito por esto y por los conceptos que nos ha desarrollado.

Después de oír esta comunicación yo no puedo dejar de señalar la *milagrosamente maravillosa organogénesis* que hace que los seres, y concretamente el hombre, se vaya desarrollando a partir de una sola célula fecundada, unión del óvulo y del espermatozoide.

Ha centrado su exposición en el tema de la angiogénesis y vasculogénesis. Yo quiero preguntarle si el concepto y la base de la angiogénesis, tal como lo ha expuesto, referida al miocardio y las ramas coronarias depende fundamentalmente de la multiplicación de las células endoteliales. ¿Son los factores estimulantes de la multiplicación endotelial los principales responsables de la aparición de la red vascular coronaria? Porque, indudablemente, tal como nos lo ha presentado, las células endoteliales, con esa envoltura que poco a poco va apareciendo de fibroblastos, son las que van a modular la estructura vascular coronaria, ¿qué factores son los responsables de este crecimiento y multiplicación endotelial? Le hago esta pregunta porque actualmente, en el campo de la moderna terapia oncológica, está, cada vez, adquiriendo mayor auge la terapia antiangiogénica, por el bloqueo de la formación de nuevos vasos como consecuencia de suprimir la acción de los factores estimulantes de las células endoteliales. En teoría esta terapia, que es totalmente diferente a la destructiva —citolítica— de la quimioterapia, es muy prometedora. Esperemos que pronto pueda llevarse a la práctica, ya que al impedir la formación de neovasos en el tumor conduce a la necrosis del mismo.

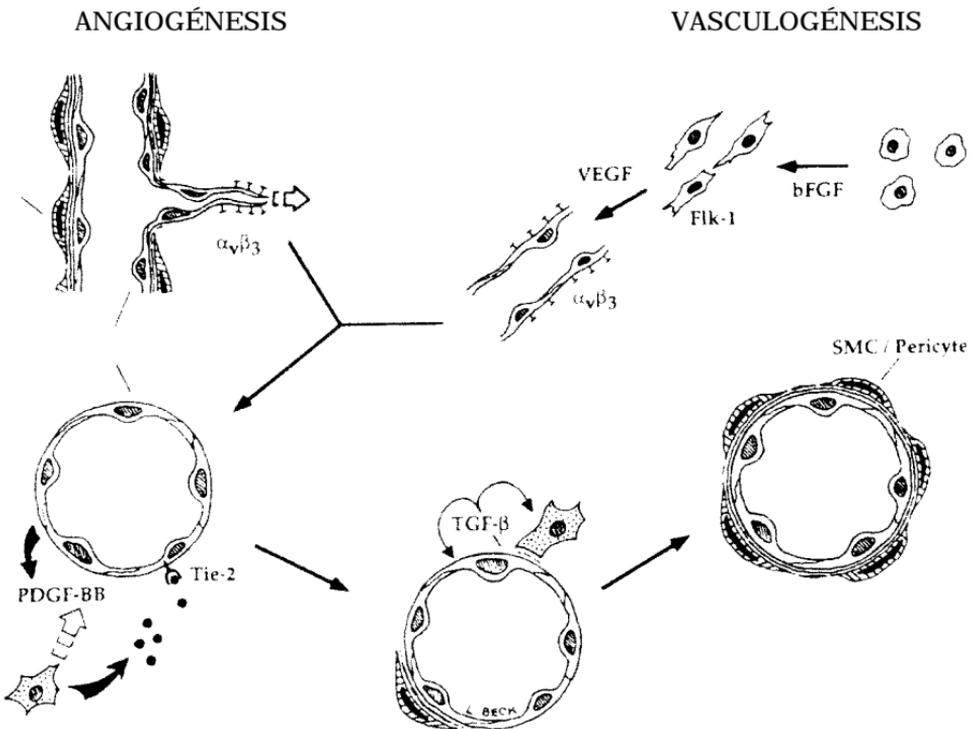
Le felicito nuevamente por esta espléndida y bonita comunicación.

CONTESTACIÓN DEL PROF. JIMÉNEZ COLLADO

Es un hecho constatado que el crecimiento y metastización de gran número de tumores depende de la formación de nuevos vasos y también es sabido que la mayoría de los tumores persisten mudos en el sentido de Cao y O'Reilly 1998 en un estado vascular quiescente, fase que se altera al producirse por factores moleculares no definidos, Folkman 1995, el desequilibrio entre reguladores positivos y negativos de la angiogénesis.

Hoy en día conocemos, apoyados fundamentalmente en las experiencias inmunohistoquímicas de Tomanek y colaboradores, 1996, 1999; Litlaung y Suvasrna 1999, Hoy Ravatska 2001, cómo una específica «célula progenitora» puede diferenciarse a musculatura lisa o célula endotelial según el factor de crecimiento que en su momento actúe, ya que en respuesta a PDGPF-PB se diferencia a musculatura lisa y pericitos, mientras que en presencia de VEGF lo hace a célula endotelial.

No obstante lo anterior y a nuestra aportación en esta línea de trabajo 1997-1999 que en síntesis hemos reflejado en este esquema,



el tema que hoy hemos traído es la determinación de cuatro estadios morfodiferenciativos con caracteres específicos en la organogénesis y diferenciación de las arterias coronarias, teniendo siempre en cuenta que todos y cada uno de estas fases o períodos no son estadios cerrados si por tal consideramos que en ellos se establecen únicamente los hechos a describir; por el contrario, al ser eslabones de una cadena biológica cuya finalidad es estructurar el patrón arterial coronario, necesariamente han de existir caracteres y procesos comunes e integrados.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Importantes las dos conferencias de hoy, de las que hacen reflexionar profundamente en los conocimientos que uno tiene o ha adquirido. Felicidades a ambos comunicantes.

En primer lugar al Prof. Sanz Esponera que, siguiendo una línea que lleva hace años, y ha presentado aquí alguno de sus importantes trabajos, se introduce en los aspectos importantes de la biología molecular, incluso haciendo participar en ese importante problema de factores proteínicos, de receptores, de la conexión de ello con el genoma, con los genes, con aquellos elementos supresores y activadores que mantienen el crecimiento vascular. El cáncer colorrectal, como otros tumores malignos, constituyen los puntos esenciales de investigación mundial actual de muchas escuelas. Para explicar lo que hasta hace no muchos años para algunos grandes autores se negaba o se discutía, relación pólipo-adenoma-cáncer colorrectal, había magníficos tratados donde eso se discutía severamente; otras personas creían que había una secuencia fundamentada en lo que era la observación histológica, histopatológica, etc...

He leído comunicaciones múltiples sobre antiinflamatorios en relación con estos procesos; por ejemplo, la pentoxifilina, potente antiinflamatorio, tiene mucho que ver en las cuestiones experimentales que he podido leer en factores multietiológicos existen en todo carcinoma, y como incluso los antiinflamatorios tienen que ver en un sentido o en otro sobre la secuencia genoma-genes supresores-genes activadores.

Le felicito por su comunicación interesantísima y fundamentada en un trabajo experimental, de investigación de gran importan-

cia. Es, una vez más, motivo de felicitar al Prof. Sanz Esponera por esta importante actividad.

Si la reflexión de esta ponencia ha sido importante para todos nosotros, no lo es menos la que ha presentado nuestro Secretario, el Prof. Jiménez Collado.

Llegar al recuerdo que teníamos de aquella anatomía que estudiamos con intensidad y entrever en esas magníficas proyecciones con que nos ha ilustrado la influencia de la vasculogénesis, de la angiogénesis, de la génesis vascular y el porqué se hace eso; ésa es la gran pregunta que todos tenemos en nuestra cabeza. El endotelio y el sistema mesenquimal son los que están actuando para la angiogénesis y el desarrollo de las cavidades cardíacas, el desarrollo de las coronarias, que nutre y constituye la base central del mantenimiento y desarrollo de las estructuras cardíacas; por qué mecanismo, qué sustancias son las activadoras permanentes de ese proceso que lleva al final a la constitución maravillosa del corazón, de los vasos de irrigación coronaria, etc...

Confieso que ha sido difícil, por lo menos para mí, el seguir esa explicación, buscando los nexos de conexión entre lo que indicaba el Prof. Jiménez Collado y lo que consideramos en el adulto lo que es la importancia y relación de la circulación coronaria y mantenimiento de la fibra cardíaca.

Gracias a los dos ponentes. Las conferencias han sido extraordinarias. Mi felicitación más sincera a ambos.

Se levanta la sesión.

XVI SESIÓN CIENTÍFICA

DÍA 7 DE OCTUBRE DE 2003

PRESIDIDA POR EL EXCMO. SR.
D. HIPÓLITO DURÁN SACRISTÁN

Presidente de Honor

VIDA Y OBRA DE MATEO ORFILA

MATEO ORFILA: A BIOGRAPHY

Por el Excmo. Sr. D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

Académico de Número y Presidente de la Corporación

**AMPUTACIONES, MARCHA Y EVOLUCIÓN
PROTÉSICA**

***AMPUTATIONS, WALKING AND PHROSTETICS
DEVELOPMENT***

Por el Ilmo. Sr. D. FELIPE PASCUAL GÓMEZ

Académico Correspondiente

VIDA Y OBRA DE MATEO ORFILA

MATEO ORFILA: A BIOGRAPHY

Por el Excmo. Sr. D. AMADOR SCHÜLLER PÉREZ

Académico de Número y Presidente de la Corporación

Resumen

Mateo J. B. Orfila, ilustre y químico, natural de Mahón, donde nació el 24 de abril de 1787 y murió en París el 12 de marzo de 1853, enterrado en esta ciudad en el cementerio de Montmartre. Estudió Medicina y Química en Valencia, Barcelona y París. Experto químico, toxicólogo y médico legista, Decano de la Facultad de Medicina de París durante 18 años, en la que hizo la gran Reforma Educativa de Medicina, que merece llevar su nombre, modelo para muchas Universidades de Francia, Alemania, Dinamarca, Escandinavia, etc., y en cierto modo de España e Italia.

Desempeñó las cátedras de Química y de Medicina Legal en la Facultad de Medicina de París, proyectó su magisterio internacionalmente hacia el Reino Unido, Alemania, Países Bajos, España, Italia, Escandinavia y Norteamérica. Difundió el saber toxicológico y médico legal, experimental y clínico, elevando su rango científico a nivel universal con metódica original, constante innovador, creador de la Ciencia Toxicológica.

Autor de innumerables trabajos y publicaciones de Química, Medicina Legal e Intoxicaciones en diversos países, «doctor honoris causa» de las más prestigiosas universidades y academias. Creador de nuevas cátedras, museos y centros de investigación. Por sus trabajos recibió honores como químico, toxicólogo y médico legista. Orfila fue «gloria» de España, país donde nació, y de Francia, donde desarrolló intenso y fructífero trabajo, en el que ocupó los más importantes cargos, entre otros, el de Académico de la Academia de Medicina de Francia y Presidente de la misma.

Abstract

Mateo J. B. Orfila, illustrious doctor and chemical, native of Mahon, where he was born April 24th, 1787 and he died in Paris March 12th, 1853, buried

in this city in the cemetery of Montmartre. He studied Medicine and Chemistry in Valencia, Barcelona and Paris. Chemical expert, toxicologist and medical jurist, Dean of the Faculty of Medicine of Paris during 18 years, in which he made the great Educational Reformation of Medicine that deserves to take his name, model for many Universities of France, Germany, Denmark, Scandinavia, etc... and in certain way of Spain and Italy.

It carried out the Chair of Chemistry and Legal Medicine in the Faculty of Medicine of Paris, he projected his teaching internationally toward the United Kingdom, Germany, Netherlands, Spain, Italy, Scandinavia and North America. It diffused the toxicological knowledge and legal, experimental and clinical doctor, elevating his scientific range at universal level with methodical original, innovative constat, creator of the Toxicological Science.

Author of countless works and publications of Chemistry, Legal Medicine and Intoxications in diverse countries, «doctor honoris causa» of the most noted universities and academies. Creator of new Chairs, Museums and Centers of Investigation. For their works he received honors like chemist, toxicologist and medical jurist. Orfila was «glory» of Spain, country where he was born, and of France, where it developed intense and fruitful work, in which occupied the most important positions, among others, Academic of the Academy of Medicine of France and President of it.

Mateo José Buenaventura Orfila, que era su nombre completo, nació en Mahón (Menorca) el día 24 de abril de 1787 y murió en París, el 12 de marzo de 1853, en cuyo cementerio de Montmartre se halla enterrado en un panteón en el que sólo reza la inscripción «Orfila».

Su ciudad natal, Mahón, de heroica y reiterada resistencia, fue desde 1708 a 1756 de dominio inglés; de 1756 a 1763, francés, y desde 1763 nuevamente inglés y desde este año a la actualidad, parte de España (1, 2, 3): *Menorca, puerto y pueblo de heroicidades* (4).

Tres objetivos me impulsaron a presentar esta comunicación:

1. Insistir que las *ciencias son cosmopolitas*, los científicos pertenecen a sus contemporáneos, a su época, sin matices políticos o geográficos. Orfila, español por nacimiento, francés por adopción, europeo y universal.

2. Reivindicar la figura y la obra de Orfila, excepcional maestro, químico y médico, innovador de una nueva Toxicología, figura cumbre de la Medicina legal europea y autor de la fundamental Reforma Educativa en el siglo XIX.

3. Orfila, de gran talento, cabal y honesto, infatigable trabajador, que no renunció a ser español, defensor de la Cultura y la Ciencia y al que envidias, insidias y celotipias le «alejaron de su patria» o contribuyeron a que así fuera.

RECUERDO HISTÓRICO DE ORFILA

Descendiente de Guillermo Orfila Puig (s. XIV), de genio creador evidente, fundador, en Mahón, de un hospital para pobres y un convento de dominicos, nieto de un agricultor e hijo de un comerciante, recibió ayuda formativa de preceptores y maestros en su infancia: el padre Francisco, franciscano, que le enseñó latín; de un sacerdote del Languedoc que le enseñó su idioma a la perfección pero conservando cierto acento; un sacerdote irlandés fue su profesor de inglés, el profesor John, y, finalmente, su maestro en Ciencias, el austro-alemán Karl Ernest Cook, por el que conservó gratitud y afecto toda su vida. A la postre, Orfila, español y menorquín, se expresaba en español, catalán menorquín, francés, inglés y conociendo bien el alemán, latín y griego, estudió filosofía, matemáticas, álgebra, náutica y cosmografía. El padre de Mateo deseaba que su hijo fuera marino, por lo que orientó en gran medida sus estudios.

Orfila, hijo de don Antonio Orfila Villalonga y de doña Susana Rotger Serra, tenía gran vocación y talento musical; estudió también música y canto. Reconocido buen barítono, lo que le ayudó de niño a corregir su tartamudez aconsejado por su médico el Dr. Siquier, Orfila compuso una misa a tres voces que se estrenó en Santa María la Mayor. La madre de Mateo Orfila, doña Susana Rotger, era de origen inglés, de buen talento y vocación y aptitud musical (3) y de la que pudo heredar su capacidad para la música. Del matrimonio Orfila Rotger sólo sobrevivieron Bárbara y Antonio (2), que llegó a ser diputado de las Cortes Españolas.

El padre de Mateo Orfila, en su afán porque éste fuera marino, le embarcó como segundo piloto en un mercante que debía llegar a Egipto, pasando por las costas mediterráneas de Túnez y Argelia. Mateo Orfila pasó todo el pasaje estudiando; apresado por un barco pirata, fue liberado y, al regresar, Orfila decidió estudiar Medicina (marzo 1803).

En posesión de una formación humanística (Sánchez Granjel) (25), Orfila inicia sus estudios de Medicina en la Universidad de Valencia (1804), con gran dedicación a la Física y a la Química, en los libros de Lavoisier y Fourcroy, con buenos resultados y «un Víctor», pero, insatisfecho con la enseñanza «demasiado elemental, sin ver ni un cadáver», se traslada, en 1805, a la Universidad de Barcelona, donde comparte enseñanzas de Química y Medicina. Discípulo en la cátedra de Química de Carbonell, y con Cano, Ametller y Vista, Carbonell le pro-

puso para una beca de cuatro años, los dos primeros para estudiar con el Prof. Proust (12) en Madrid, donde éste estaba contratado, y otros dos en París con Fourcroy, maestro en Química Aplicada. Al cabo de este tiempo podría regentar una cátedra de Química que para él sería creada (2). Orfila regresa a Madrid para entrevistarse con Proust que, enfermo, había regresado a París. Orfila, ante este hecho, solicita permiso a la Junta de Comercio de Barcelona para continuar pensionado y formarse en París, ya que «la Facultad de Barcelona era escasa en clínicas y no había autopsias», pretensión a la que accede la Junta de Comercio de Barcelona, incluso otorgándole 6.000 reales para estudiar Historia Natural y Química (10).

ORFILA EN PARÍS

Llega a esta ciudad el día 9 de julio de 1807, sin recursos económicos (había sufrido en el viaje una estafa), con 20 años de edad, y ya químico hace simultáneo trabajo ayudando en el laboratorio a Vauquelin y Fourcroy y su aprendizaje de Medicina, desde 1808 a 1811, año en que termina la licenciatura. Debe destacarse cómo, hace 196 años, el «criterio» del joven Orfila fue considerar trascendente para su formación científica y profesional hacerse químico y médico, vislumbrando la relevante interrelación que tendrían para la investigación, la clínica y la docencia, bases actuales para la Bioquímica, la Biotecnología y la Biología Molecular.

Para subsistir económicamente en París «imparte» clases particulares de Física, Química, Botánica, Anatomía, en su casa de la calle de la Croix de Petits Champs, que eran muy concurridas dada la facilidad y claridad expositiva de Orfila.

Con brillantez cursa el doctorado de Medicina. Su investidura doctoral fue el 27 de diciembre de 1811, con la tesis: «Nuevos hallazgos en la orina de los ictericos», con la máxima calificación (12). Orfila, lleno de ambiciones intelectuales (4), trabaja con gran intensidad, apenas sin descanso, con Vauquelin en la investigación química y toxicológica, y prepara los cursos que dictaba Fourcroy.

Fueron numerosos los «maestros de Orfila» en la Química y en la Medicina, tales como Boyer, Dupuytren, Recamer, Petit, Fourquier, pero básicos y fundamentales Vauquelin y Fourcroy, y, anteriormente, Carbonell. Orfila hizo esenciales y diversos viajes a centros de investigación y universidades, a Dublín, Filadelfia, Berlín, Viena, Lon-

dres, donde estuvo en el centro Hunter, y admiró la seriedad anglosajona, la interdisciplinaridad y la correlación anatomoclínica.

Los años 1808 al 1816, primordiales para Orfila, de intenso estudio y trabajo experimental toxicológico, con 4.000 experimentos en perros y en los que su prestigio alcanzó en Francia el más elevado nivel.

En el año 1808, estando Orfila en París, estalla la Guerra de la Independencia y Orfila, como todos los españoles residentes en París, es encarcelado, noticia que llega a oídos de Vauquelin que, investido de sus mejores galas de académico de Francia, va a la prisión y libera a Orfila, por lo que éste le guarda afecto y gratitud imperecederos y sigue viviendo en París (20).

En los años 1812 al 14 realiza numerosos trabajos y elabora un *Tratado sobre los venenos* y su libro *Toxicología General* como expresión de ser un innovador, o mejor creador, de la Toxicología General, por lo que es nombrado, en 1815, Académico Numerario de la Academia de Ciencias de París, cuando sólo contaba 29 años de edad.

En 1814 Orfila escribe desde París a la Junta de Comercio de Barcelona, poniéndose a su disposición. La Junta contestó que «no tenía recursos suficientes», si bien le invitaron a desempeñar una cátedra de Química en Madrid. Orfila puso condiciones que no se aceptaron por el secretario de Estado del rey español o no fueron contestadas a tiempo, según otra versión. El 11 de octubre de 1815 la *Gaceta* publica un decreto creando la citada cátedra o laboratorio y nombrando para dirigirlo a Orfila, pero sin que se nombraran las condiciones que Orfila requería: «*Plan de Estudios de Orfila*: Las Provincias y Reinos de España enviarán cada uno cuatro jóvenes para que, pensionados por estas instituciones, puedan seguir los cursos de Orfila en París, teóricos y prácticos durante tres años tras los que acudirán a concursos para ocupar puestos en las universidades, academias, centros de investigación, etc.» (10).

Consideramos a 1815 año crucial para el porvenir de Orfila, que en el mismo toma la decisión de fijar su residencia en París, renuncia a los ofrecimientos que le llegan desde España por parte del rey Fernando VII, que le nombró director del Laboratorio de Química de la Corte (*Gaceta*, 31 de octubre de 1815). Orfila puso condiciones que no fueron aceptadas por el rey. Hay que pensar que en la decisión de Orfila pudo influir su boda en Francia con Ana Gabriela Leuseur, hija del escultor de este nombre. Orfila compartiría con Lefebre el nombramiento de médico de cámara del rey Luis XVIII,

por cierto sin emolumentos, hasta que Orfila se nacionalizó francés, lo que sucedió en 1818 (10).

Los años 1815 a 1819 fueron de gran estudio y actividad docente e investigadora de Orfila. En corto espacio de tiempo adquirió enorme prestigio en Francia, en Europa y en España, donde recibió los nombramientos de «Doctor Honoris Causa» y «correspondiente» de España (Madrid), Barcelona, Islas Baleares, Murcia, Cádiz y de numerosas academias y asociaciones de Londres, Berlín, Viena, Filadelfia, Canadá. Orfila era hombre de honor, fiel a sus convicciones, innovador constante (4), de vigorosa inteligencia, voluntad inquebrantable para el trabajo (8) y creador de la Ciencia Toxicológica (Truhat) (5). Años de gran producción científica, como *Tratado de los venenos o Toxicología General* (París, 1814), *Elementos de Química* (1817), con ocho ediciones sucesivas entre 1817 y 1851 y traducidas al español, inglés, alemán, italiano y holandés. En 1818 se edita, en la imprenta de la calle de la Greda, el tratado *Socorros que se han de dar a los envenenados o asfixiados*, técnicas originales para reconocer los venenos, los vinos adulterados y para distinguir la muerte real de la aparente.

En el año 1816 Orfila vuelve a visitar Mahón y Barcelona, en las que fue clamorosamente recibido en medios científicos, universitarios y académicos, conscientes de su prestigio como químico, médico legista y toxicólogo de fama mundial.

En 1819 gana en concurso, frente a Perisot y Husson, la plaza de profesor en la Facultad de Medicina de París, de la cátedra de Medicina Legal de París y en 1820 es el presidente de los Jurados médicos del Departamento de Sanidad del Sena y por sus méritos nombrado y aclamado académico numerario de la Real Academia Nacional de Medicina de Francia, tomando posesión de esta distinción en 1821 y en la que llegó a ser presidente de la misma en 1851. Fue en esta Corporación, con 33 años, su académico numerario más joven.

En 1822 Orfila obtiene la cátedra de Química Médica de la Facultad de Medicina de París, que ejerce además de la citada cátedra de Medicina Legal de la misma Facultad.

En 1823 cesa, por la edad, su maestro Vauquelin, al que sucede Orfila, realizando con intensidad la enseñanza de Química médica durante años sucesivos. En el año 1831 cesa como decano el Prof. Dubois, en la Facultad de Medicina de París, y es nombrado para sustituirle Orfila, que permanece como decano diecisiete años seguidos y realiza una terminante y primordial Reforma Educativa, que

merece llevar su nombre y que, iniciada en 1831, persistió dinámicamente activa hasta la Reforma Debré de 1958. Reforma que fue posible gracias a la capacidad organizativa inteligente y constante de Orfila, como decano y como miembro del Consejo General de Hospitales y de Hospicios y del Consejo General de Instrucción Pública, del Consejo Municipal y del Consejo General de Sanidad del Departamento del Sena.

Fundamentaron su Reforma la exigencia del Bachillerato para efectuar estudios universitarios. Eliminación de los «iletrados». Mantenimiento de la disciplina universitaria. Escolaridad de 4 a 5 años. Exámenes obligatorios. Lecciones magistrales teóricas y lecciones prácticas. Diseño de rotatorios para los alumnos. Concursos para catedráticos, agregados y asociados. Creación del Cuerpo de Médicos internos y externos y de los Hospitales de Clínicas, con Departamentos de Medicina, Cirugía y Partos. Diseños de Reglamentos y creación de diplomas de asistencia. Creación de nuevas cátedras de Oftalmología, Ortopedia, Urología y Obstetricia. Creación del nuevo Pabellón de Disección. Creación y desarrollo modélicos de los Museos Dupuytren de Anatomía Humana, del que fue guía e impulsor y le dio el nombre de Dupuytren en honor a este gran maestro de la Medicina y Cirugía de Francia y el Museo Orfila, de anatomía comparada. Uno y otro básicos para la docencia, como también fue el Jardín Botánico creado bajo su dirección.

Orfila era un gran investigador, creador de métodos de Química aplicada, creador de la Toxicología, que estaba, «antes de Orfila, en mantillas»; en Medicina Legal, pero también en Anatomía patológica y fomentando revisiones clínicas y sesiones postnecrósicas.

El estudio de sus obras permite asegurar que fue impulsor de las Ciencias Médicas y de las Academias de Ciencias y de Medicina en numerosos países de Europa y del Nuevo Mundo. Reconocido como Médico Legista de prestigio mundial, hizo trabajos y dictámenes jurídicos del máximo nivel.

Impartió clases en el Ateneo de París, miembro activo de la Sociedad Química Médica de París, enemigo del «charlatanismo», y desarrolló, como gran filántropo, múltiples obras benéficas, dejando importantes legados en este sentido, y fue promovido en 1834 a la dignidad de Comendador de la Legión de Honor.

Orfila, en 1846, hace un nuevo viaje y, como los anteriores calificable de «triumfal», visitó Barcelona, Madrid, Valencia, Sevilla, Cádiz, en las que recibió el título de «Doctor Honorífico» (8).

En 1848, en plena Revolución, se intenta revocar el mandato del Decano. Orfila, después de sus 18 años en el cargo, sufre verdadero ultraje, en el que no estaban alejados algunos de sus enemigos, llenos de envidias y rencores. De igual forma fue destituido del Consejo de Instrucción Pública y nombraron una Comisión para «comprobar» la gestión de Orfila. No obstante, conservó la Cátedra de Química, donde siguió sus lecciones. El gran daño hecho a Orfila, provocó le hicieran un homenaje y además tuvo su compensación afectiva, pues le nombraron Presidente de la Academia Nacional de Medicina de Francia. El día 4 de enero de 1853 lee su testamento en esta Academia, dejando herederos de 125.000 francos a la Facultad de Medicina de París, a la Escuela de Farmacia y a la Asociación de Médicos del Departamento del Sena y pormenorizado como deseaba se hiciera el reparto de su legado.

Orfila muere en París el día 12 de marzo de 1853, a los 66 años de edad y justamente dos meses después del citado legado, víctima de una neumonía diagnosticada por los Dres. Chommel, Andral y Restan, con focos de hepatización bilaterales. Indicó le hicieran la autopsia en presencia de sus alumnos, lo que así fue realizado. Se produjo un gran duelo oficial y se hicieron numerosas sesiones necrológicas en Francia y en el mundo, muchas muestras de pesar y condolencia, homenajes póstumos para resaltar su ingente contribución al conocimiento de la enfermedad, a la mejoría de la salud pública y como benefactor de la sociedad, aparte de lo que supuso para el progreso de la Química, la Toxicología, la Medicina y especialmente la Medicina Legal.

En su juventud y ya plena madurez fue citado en España por la Inquisición. Orfila acudió a la cita con el Inquisidor General, que quedó encantado de su cultura y sabiduría, de su exquisito trato, bondad y generosidad, y por ello recibió su felicitación en lugar de reprimenda, castigo o sanción.

También en Francia, con la revolución del 48, fue minuciosamente revisada su gestión, la del Decano Orfila, y se llegó a reconocer la importancia de su obra excepcional, docente, investigadora, doctrinal, cultural, época en Francia en que también fueron «investigados meticulosamente grandes maestros de la Medicina francesa».

La obra médica escrita de Orfila, vista desde nuestra perspectiva actual, es mayúscula: trató todos los capítulos de la Química inorgánica y orgánica, especialmente la Química Médica, la Toxicología General y Especial, la Medicina Legal en todos sus apartados

de la que fue experto perito jurídico, así reconocido mundialmente. Para Truhaut (5) Orfila jugó un papel decisivo para elevar el rango científico de la Toxicología, ciencia multidisciplinar según él, que se ocupa de los venenos o tóxicos, de sus propiedades físicas, químicas y biológicas, de sus modalidades y mecanismos de acción, de la investigación para su detección cuanti-cualitativa y de la lucha frente a sus efectos nocivos, de los antidotos y de las medidas para prevenir sus acciones. Orfila es el indiscutido creador de la Toxicología y de la Toxicología Legal (Hadengue, 1987) (6).

Por su interés, al estudiar la obra de Orfila, resumiremos algunos datos de Orfila químico, Orfila toxicólogo y Orfila médico en Medicina Legal.

Orfila químico: Es uno de los aspectos más relevantes de la obra de Orfila, como se evidencia al leer su libro *Elementos de la Química aplicada a la Medicina, a la Farmacia y a las Artes* (1822). Capítulos originales sobre las leyes de cohesión y afinidad, cristalización, termometría, efectos del calor sobre los cuerpos sólo o asociado a la luz, en algunas situaciones y enfermedades, espectro solar, cuerpos conductores y no conductores. Aguas mineromedicinales y sus efectos. Efectos del agua fría, tibia y caliente, acción de compuestos químicos inorgánicos y orgánicos, tipos de venenos, intoxicaciones y antidotos. Fueron muy notorios y apreciados sus trabajos con el quimo y el quilo, estudios de la sangre, bilis, heces, l.c.r., descripciones princeps sobre jugo gástrico ácido y alcalino, estudio de la orina, la leche, la masa cerebral, piel y tejido celular subcutáneo, glándulas, músculos, huesos, cálculos, etc.

Orfila toxicólogo: Como indicaron en 1987 Truhaut (5) y Hadengue (6), Orfila fue «el fundador de la Toxicología», al jugar un papel esencial para elevar el rango científico de la misma. Las primeras referencias a los tóxicos se encuentran en el papiro de Ebers, 1.500 años antes de J.C. y con historia médica jalonada por los trabajos de Hipócrates, Theoplasto, Dioscórides, Mitidrates, etc., comociéndose en la Edad Media y en el Renacimiento los efectos clínicos de los venenos y tóxicos.

Orfila, estudiante en Valencia, conoce los libros de Lavoisier, Fourcroy y Vauquelin, se apasiona por la Química y sigue los Cursos del Museo y de la Escuela de Medicina en París (1807) y trabaja en el Laboratorio de Vauquelin eligiendo como tema de su tesis doctoral «Química de la orina en las ictericias» (1811).

Durante años Orfila hace de los tóxicos estudio y atención per-

manente; mediante investigación química, experimental y clínica, adquiere experiencia propia definitiva, fundamento de su excelente *Tratado de Toxicología General*, en dos tomos y varias ediciones y traducciones en español, inglés, alemán e italiano, prueba inequívoca de su excelencia. Constituyen su fundamento los numerosos trabajos y memorias sobre envenenamientos.

Otra gran aportación científica de Orfila es el Diccionario de términos médicos y quirúrgicos, físicos y químicos, así como de Botánica y Farmacia, destacando la clasificación de los venenos tóxicos, *Nosotaxia*, mundialmente admitida y vigente hasta nuestros días, a lo que se suma la característica de cada grupo y de cada veneno y la metódica diagnóstica conveniente.

Dos motivos esenciales de la bondad de su tratado toxicológico: Era Orfila maestro de la Química analítica y práctica y adquirió inconmensurable experiencia propia experimental en perros, con diversos tóxicos y variadas técnicas y métodos para conocer efectos de la absorción, circulación, acción sobre sistemas y órganos y los mecanismos alterativos y fisiopatológicos, y, en especial, las formas de evidenciar el tóxico en los productos naturales y en el cadáver. Para aquel momento de la Medicina son sobresalientes sus descripciones anatomopatológicas de las intoxicaciones. Podemos decir que Orfila cambió la Toxicología Química, el mundo de las reacciones químicas en la Toxicología Experimental.

La obra de Orfila alcanzaba gran repercusión en las universidades, academias y centros de investigación en Francia, en los foros de Medicina Legal, Toxicología, Química y Medicina y a la par en centros similares de Europa (Inglaterra, Alemania, Países Bajos, Escandinavia y España), a los que llegaban los originales y sus traducciones.

Habíase conocido el prestigio de Orfila en el mundo civilizado y se reciben dos de sus grandes obras: *Elementos de Química analítica* (1822) y las *Lecciones de Medicina Legal y el Tratado de Medicina Legal* que, traducidas a muchos idiomas, tuvieron amplia difusión mundial.

Orfila y la Medicina Legal: Orfila, residente ya en París, en 1819, obtiene por concurso en la Facultad de Medicina de París, frente a Perisot y Hassan, la cátedera de Medicina Legal, al tiempo de publicar su valiosa monografía *Socorros que se han de dar a los envenenados y asfixiados* (1818), seguida de la obra *Mémoires de l'Académie Royale de Médecine*, con varios tomos, de 1828, y de *Éléments de*

Chimie en varios tomos (1843 y sucesivos), con algunos capítulos de gran interés como el titulado «Experiences faites sur la violine». Las *Leçons de Toxicologie* fueron durante años texto en muchas Facultades de Medicina de Francia y de otros países. En la publicación *Trabajos de la Cátedra de Historia crítica de la Medicina*, tomos I al IV, son varios los trabajos referentes a Orfila, así como en el trabajo del Dr. Villalba y Pérez, «Sucinta memoria acerca de las enfermedades que reinan en ciertos puntos de la costa occidental de África», editado en Cádiz, en 1846, hay varios trabajos de Orfila; como en el opúsculo *Análisis de algunas aguas minerales de las Islas Canarias* son citados los trabajos de laboratorio de Orfila para estudiar la composición y características de diversas aguas mineromedicinales.

Son diversas las biografías de Orfila y la referencia a muchas de sus actividades y trabajos; a destacar en el libro *Glorias de la Ciencia* la historia biográfica del maestro Orfila que publica don Joaquín Olmedilla y Puig en 1876.

Catedrático de Medicina Legal a los 32 años y posiblemente el más experto perito en el siglo XIX en múltiples causas judiciales en París y en Francia, autor de *dictámenes e informes* que eran escuchados por un público que abarrotaba las Salas de los Tribunales de Justicia, enfervorecido y entusiasmado con la palabra clara, concisa y brillante del maestro Orfila.

Orfila hizo una excelente catalogación de las cuestiones que abarca la Medicina Legal e indicó las declaraciones e informes (documentos, etc.) a realizar por el médico con integridad y espíritu de justicia, de responsabilidad y no sin dificultades, al tratar procesos bien dispares, como la impotencia, estupro, violación, aborto, embarazo, demencias, traumatismos, envenenamientos, etc. En un magnífico capítulo «historia de las edades», juvenil, segunda infancia, adolescencia, edad adulta, vejez y decrepitud, con sus características. Son vigentes los capítulos dedicados al pudor, honestidad, sodomía, cuestiones médico-legales relacionados con el matrimonio, causas de nulidad, etc., malformaciones en el área genital, en ambos sexos, embarazo, aborto, viabilidad fetal, declaraciones de paternidad y maternidad. Capítulos de gran interés de las enfermedades simuladas (epilepsia, etc.), enfermedades mentales, suicidio, embriaguez, demencias, y los muy interesantes capítulos sobre somnolencia, sueño, delirio, sordomudez. Consideró Orfila que la Toxicología es un «complemento necesario para los estudios médicos y que rendirá grandes beneficios en la práctica clínica».

Si la obra de Orfila sirvió para elevar a gran nivel la Química médica, la Toxicología y la Medicina Legal, igualmente puede calificarse su entrega a sus alumnos y discípulos, formación, orientación y consejos continuos jalonaron su diaria labor magistral. Asunto éste que motiva estas líneas y quizás fueran junto a su perseverancia y tenacidad la causa primordial de que fuera promovido en 1834 a la dignidad de Comendador de la Legión de Honor a la par que en Madrid, al conocer sus éxitos y por deseo de S. M. el Rey y del claustro de catedráticos, se le dignifica con la consideración de Dr. Médico de Madrid, y, efectivamente, aprovechando el viaje que hizo en 1846 a España y también triunfal, se renuevan homenajes en muchas capitales y es nombrado doctor honorífico (8).

En plena Revolución de 1848 intentan revocar el mandato del Decano Orfila, después de 18 años en este cargo, después de que consiguiera su Reforma Educativa, ultraje que se intenta paliar rindiéndole un homenaje de reparación y es elevado a la Presidencia de la Academia Nacional de Medicina de Francia. Orfila es destituido como Decano de la Facultad de Medicina de París y como miembro del Consejo de Instrucción Pública y se nombra «una comisión» para comprobar la «gestión de Orfila», pero en este interin Orfila conservó la cátedra de Química y siguió dictando lecciones.

Al estudiar la obra de Orfila nos han llamado poderosamente la atención las descripciones clínicas, el concepto y el conocimiento evolutivo de las enfermedades con arreglo a la Medicina al uso de entonces; por ejemplo, la tifoidea, el cólera, la disentería, y de sus epidemias y de la repercusión anatomopatológica, así como de la Patología General y especial.

Es obligado insistir en la «prodigiosa Reforma educativa de Orfila», que se adaptó en la Facultad de Medicina de París y en otras de Francia (4, 5, 6 y 7) y que tuvo gran repercusión en el «mundo universitario» europeo y mundial, por lo que el nombre de Orfila debería figurar y así me cabe reclamarlo en los más destacados lugares de academias, universidades y escuelas de Medicina.

Orfila, menorquín y sintiéndose muy español, señaló varias veces «que había amado siempre a la juventud y a la Ciencia y que deseaba dejar su legado para años» refiriéndose a la juventud de Francia. A Orfila, gran luchador por aquello que consideraba «justo», le tocaron vivir años difíciles para ser un innovador de los estudios médicos, en el final del s. XVIII y XIX, años que, como asegura Auquier (7), con «ideas a veces confusas», ante los que Orfila

hacia especial énfasis en el desarrollo y activación de la «Deontología Hipocrática» y en su decidido apoyo de las instituciones en defensa de la Medicina y de los médicos, y fue incansable para conseguir las célebres Ordenanzas de los Médicos.

Orfila era un excelente e incansable gestor de especial dedicación para conseguir que los edificios y departamentos para el desarrollo de las instituciones médicas (academias, universidades, facultades, centros de investigación) tuvieran la suficiente dignidad: bajo su mandato se construyó el Colegio de Cirugía de la Rue des Cordeliers, el Pabellón de Docencia, el Hospital de Clínicas, trasladó las Clínicas Médicas al Hotel Dieu. Tuvo como especial objetivo conseguir la Asociación de Hospitales para la Docencia, lo que, junto a la creación del Cuerpo de médicos internos y a la consecución de convocatorias y creación de plazas de profesores catedráticos, agregados y asociados, con mejoría de sus dotaciones económicas, constituyó el fundamento de su éxito.

Orfila consiguió «poner orden» en las universidades, escuelas y academias, con la redacción de nuevos estatutos y reglamentos, ejemplo que se difundió a las instituciones similares de Europa y América.

Citamos a continuación las Ordenanzas de los Médicos, fundamento de la Reforma educativa:

— Ordenanza de 1823. Organización de la Facultad de Medicina de París.

— Ordenanza de 3 de abril de 1836. Obligatoriedad del bachiller para iniciar una carrera universitaria superior. Eliminar alumnos insuficientemente preparados. Transformación de los Oficiales de Salud.

— Ordenanza de 13 de octubre de 1840, reorganización de Escuelas de Medicina y Farmacia. Escuelas preparatorias de Medicina y Farmacia.

— Ordenanza de 3 de octubre de 1841, para obtener título de Doctor en Medicina, obligatoriedad de permanencia al menos de un año en un hospital (necesidad de certificados de asistencia trimestrales).

Ordenanza Debré 1958: Para la obtención del título de Oficiales de Salud.

Orfila, químico y médico, natural de Mahón (Menorca) y por tanto menorquín, balear y español por su nacimiento y francés por adopción, por su trabajo de varias ilustres décadas, europeo y uni-

versal, por la repercusión de su obra, uno de los más importantes cimientos de la Medicina moderna (7), y cuya gloria, según Gil Oliarte (8), pertenece a Francia, pero que Calvo Asensio, en una composición poética (8) destinada a glorificar a Orfila, pone en labios de España en disputa con Francia, dice: «Ése —refiriéndose a Orfila—, que el mundo admira, es hijo mío» (8).

BIBLIOGRAFÍA

1. OLMEDILLA Y PUIG, Joaquín: *Glorias de la Ciencia*. Madrid. Eduardo de Mena, 1876, pp. 181-202.
2. PÉREZ VICTORIA, César: *Orfila*. En *Trabajos de la Cátedra de Historia crítica de la Medicina*, 1934-35, tomo IV, pp. 171-199.
3. BOTELLA LLUSIÁ, José: Sesión conmemorativa del bicentenario del nacimiento de M. Orfila. *Bull. de l'Académie National de Médecine* 171, 4, 1987, pp. 443-448.
4. DELMAS, A.: «Biographie d'Orfila». *Bull. Acad. Natl. Méd.*, 171, 4, 1987, pp. 447-457.
5. TRUHAUT, R.: «Orfila. Fondateur de la Toxicologie». *Bull. Acad. Natl. Méd.*, 1987, 171, 549.
6. HADENGUE, A.: «Mateo Orfile et la Médecine Legal». *Bull. Acad. Natl. Méd.* 1987, 171, 4, p. 469.
7. AUQUIER, L.: «Orfila et l'organisation des études médicales». *Bull. Acad. Natl. Méd.*, 1987, 171, 4, pp. 477-483.
8. GIL OLIARTE, A.: «Algunas notas bibliográficas de Orfila». en *Trabajos de la Cátedra de Historia Crítica de Medicina*, 1932-33, 333-337.
9. M. ORFILA: *Elements de Chimie*, tomos I y II, 7.^a ed. París, 1843, Fortin Massonet Cie. Libraires.
10. M. ORFILA: *Tratado de Medicina Legal*, tomo I, Madrid, 1817. Imprenta de don José M.^a Blanco. Id. en *Tratado de Med. Legal*, trad. 4.^a ed. Arreglado a la Legislación española por I. Enrique Atard.
11. HOFBAUER: *Die Psychologie in ihrer Hauptanwendigen auf die Rects Iha-gen nachdem allgemainen Gesicht*. Halle 1808, 2.^a ed. 1823.
12. BALLESTEROS, A.: «Vida y obra del Dr. Orfila (Mahon, 1787 - París, 1853)». *Rev. Acad. Med. Palma* 23, 3, 1853.
13. ORFILA, M.: *De la chaleur dans les phenomènes chimiques*. París 1853, Labé ed., p. 102.
14. ORFILA, M.: «Leçon de Toxicologie», París, 1858, Labé. *Histoire de la Facultad de Médecine*, pp. 1-120.
15. ORFILA, M. et Chomel, M.: *Mémoires de l'Académie Royale de Médecine. Experiences faites avec la violine*. París, Baillière, 1828, 440.
16. ORFILA, M.: *Socorros que se han de dar a envenenados y asfixiados*, Imprenta de la calle de la Greda, Madrid, 1818.
17. ORFILA, M.: *Elementos de Química aplicada a la Medicina, la Farmacia y a las Artes*, 21 ed., Imprenta del Licenciado Cosme Martínez, 1822.
18. EUSEBIO LAFUENTE HERNÁNDEZ: *El Dr. Orfila y su época (1787-1853)*. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid, 1987.

19. GUILLERMO TENA: «La Toxicología Forense y su iniciación en España». En *El Dr. Orfila. El Lazareto*. Dirección Gral. de Farmacia y productos farmacéuticos. Madrid, 1987, pp. 18-19.
20. JACINTO CORBELLA: «Vida y obra de Mateo Orfila». En el libro *Orfila y el Lazareto*. Dirección Gral. de Farmacia y Productos Farmacéuticos. Madrid, 1987, pp. 21-32.
21. E. FOURNIER: «Orfila-Student-Professor». En *Dr. Orfila. El Lazareto*. Dirección Gral. de Farmacia y Productos Farmacéuticos. Madrid, 1987, pp. 33-48.
22. M.^a DEL CARMEN BOSCH: «Orfila a través de la correspondencia familiar». En *Dr. Orfila. El Lazareto*. Dirección Gral. de Farmacia y Productos Farmacéuticos, Madrid, 1987, pp. 49-62.
23. A. TERRÓN: «Orfila, una perspectiva actual». En el libro *Dr. Orfila. El Lazareto*. Dirección Gral. de Farmacia y Productos Farmacéuticos, Madrid, 1987, pp. 63-72.
24. R. WYNNING: «The life of Orfila in Paris». En el libro *Dr. Orfila. El Lazareto*. Dirección Gral. de Farmacia y Productos Farmacéuticos. Madrid, 1987, pp. 73-80.
25. L. SÁNCHEZ GRANJEL: «Orfila, Mateo». *Gran Enciclopedia Rialp* (Ger.). Biografías, Madrid, 1991, pp. 1 y 2.

INTERVENCIONES

Prof. Sánchez Granjel

Tras destacar, como merece, el estudio del Prof. Schüller Pérez sobre la figura de Orfila, quiero señalar que su biografía científica constituye un testimonio de las nefastas consecuencias de los que cabe denominar 'exilios culturales o científicos'. Orfila encuentra el París el clima adecuado para desarrollar su labor investigadora y docente, quedando vinculado a la Medicina francesa. Si lo futurible se admite, cabe suponer que su retorno a España hubiera truncado un muy brillante porvenir; esta suposición la avala la peripecia biográfica de un médico, riguroso coetáneo de Orfila, Ignacio M.^a Ruiz de Luzuriaga, quien estudia en París, donde se inicia en la investigación del proceso bioquímico de la respiración, labor que prosigue en Edimburgo. Ruiz de Luzuriaga sí retornó a España y su porvenir como fisiólogo se interrumpe de modo definitivo; pudo haber sido el iniciador de la fisiología experimental, rama del conocimiento del ser humano que no tendría en España real comienzo hasta las primeras décadas del siglo xx. Desde su regreso a España Luzuriaga sólo llevó a cabo labor, desde luego muy meritoria, en el campo de la política sanitaria. Orfila y Luzuriaga podrían componer, con el ejemplo de sus vidas, dos capí-

tulos de un estudio, aún no realizado, sobre la influencia (positiva o negativa, que de todo hubo) de los exilios (políticos y culturales) en la Medicina española del siglo XIX.

Prof. Moya Pueyo

Quiero felicitar al Profesor Schüller por la riqueza de datos que ha aportado sobre Mateo Orfila, por la oportunidad de traer ahora esta conferencia que de hecho nos sitúa en el campo de la asistencia sanitaria por la profundización de los problemas toxicológicos y que por su condición de internista puede valorar en su dimensión actual nuestro presidente.

Durante los últimos años se han ocupado de Mateo Orfila en su *Historia de la Medicina Legal Española*, el propio Ministerio de Sanidad y Consumo que ha promovido la publicación de una amplia y documentada biografía sobre el médico mallorquín y, además, entre nosotros el Prof. Botella Llusia, mediante la publicación de varios artículos con ocasión del segundo centenario del nacimiento de nuestro insigne toxicólogo, algunos de ellos aparecieron como terceras páginas del diario ABC.

Al reflexionar en los momentos presentes sobre la obra de Orfila, lo primero que encontramos, como en tantos otros casos, es que la acción del tiempo ha borrado sus numerosas aportaciones en el campo de la Toxicología. No obstante, hay dos temas que abordó acertadamente, que supusieron un cambio radical sobre las ideas imperantes en su tiempo y que persisten:

1.^a Sobre el mecanismo de acción de los tóxicos.

Hasta Orfila se creía que las sustancias tóxicas penetraban en el aparato digestivo y actuaban localmente. Esta creencia fue sustituida por sus nuevas ideas de que los tóxicos, una vez en el aparato digestivo, pasan al torrente circulatorio y del mismo a todos los órganos y aparatos. Como puede comprenderse, la enunciación de esta teoría dio un giro copernicano al saber toxicológico.

2.^a Dio un adecuado valor a la realidad cuantitativa de los tóxicos en el organismo humano, muy importante ello a la hora de elaborar los pronósticos, dado que demostró la existencia de ciertas sustancias tóxicas en el organismo humano en todos los casos, debiendo establecerse para los mismos las fronteras entre normalidad e intoxicación, sobre la base de determinaciones cuantitativas.

El profesor Orfila, que fue decano de la Facultad de Medicina de París durante largos años, dominaba todo el saber médico y químico de su época, por supuesto muy reducido respecto a la situación actual, dado que aún no se había elaborado por Mendelejev la tabla periódica de los elementos, sólo se conocían unos cuantos centenares de moléculas y el dominio acerca de las propiedades de las mismas y de sus acciones sobre los seres humanos es en lo que profundizó Mateo Orfila, que siempre estuvo en contacto con las más acreditadas autoridades químicas de su época, como fue Marcel Proust, que durante varios años fue profesor de Química en la Escuela de Artillería de Segovia y que enunció la Ley de las Proporciones Definidas.

Prof. Gracia Guillén

Me uno a las felicitaciones que ya han hecho públicas quienes me han precedido en el uso de la palabra. Quería añadir dos breves comentarios a la fina y emotiva evocación de la figura de don Mateo José Buenaventura Orfila, que ha realizado nuestro presidente, don Amador Schüller. El primero es sobre la importancia de los saberes básicos en el desarrollo de la medicina clínica. Orfila fue un excelente químico, formado con algunos de los mejores maestros de su época, y eso le permitió participar en el inicio de tres nacientes disciplinas. Una es la Fisiopatología, junto con su coetáneo François Magendie. Otra, la Toxicología. Y la tercera es la Farmacología experimental. No hay que olvidar que, como ya dijera Kant en la *Crítica de la razón práctica*, la diferencia entre un fármaco y un veneno está frecuentemente en la dosis.

El segundo comentario tiene que ver con la españolidad o no de la figura de Orfila. Hay una frase de Cajal que Laín Entralgo repetía con frecuencia y que dice: «A patria chica, alma grande». Orfila era de un lugar pequeño y recóndito, Mahón. Podía haberse contentado con seguir el negocio de sus padres y vivir allí plácidamente. No lo hizo. Quiso ir en busca del saber, quiso hacer ciencia, y de ese modo comenzó la peregrinación que a través de Valencia, Barcelona y Madrid acabó conduciéndole a París. La ciencia no tiene patria, o no debe tenerla. Orfila nació en una patria chica, pero demostró tener un alma grande. Alma grande se dice en griego *megalopsychia*. Aristóteles la dedica un capítulo en la

Ética a Nicómaco. Los latinos tradujeron este término por *magnanimitas*, *magna anima*, de donde ha salido la palabra castellana magnanimidad. La ciencia necesita de este tipo de personajes, capaces de superar las barreras locales. Orfila es un buen ejemplo de que la patria de la ciencia no puede ser otra que el mundo entero.

Prof. Rey Calero

Produce una gran satisfacción haber escuchado la documentada intervención del Prof. Schüller, que ha profundizado en la evocación de la espléndida vida de Mateo J. Bautista Orfila, y la hemos podido contemplar en la maestría de su presentación, obteniendo de ello profundas enseñanzas. Podríamos decir que «el presente del pasado es la memoria, que el presente del presente es la contemplación, y el presente del futuro es la esperanza», como nos ha hecho vivir el Prof. Schüller la vida y obra de este adelantado de la enseñanza de la Toxicología, y muchas más ciencias médicas.

La palabra Toxicología deriva de «Toxos» arco y las flechas envenenadas en la punta para la caza de animales, o para la defensa frente a la agresión. El importante conocedor de la química dispuso de sistemas de análisis de estos tóxicos en los tejidos. Su *Traité des Poisons* es una obra capital, así como su libro *Elementos de Química* recomendado en las Facultades europeas.

Le tocó vivir procelosas circunstancias, con la Revolución, los cambios napoleónicos, etc. Nos ha indicado que, a pesar de su gran prestigio, fue encarcelado en París por su procedencia extranjera, por ser español de origen, pero si hubiese venido a España, hubiera sido tildado de afrancesado.

Fue el gran alentador de las reformas para los estudios preparatorios a la Universidad, pertenecía al Consejo de Instrucción Pública, junto a Villemin, un personaje que conocemos bien los que estudiamos la Salud Pública, porque mucho antes que se descubriera el bacilo por R. Koch, sostuvo que la Tuberculosis era una enfermedad contagiosa y no hereditaria a pesar de familias de tuberculosos, asdoptando medidas para evitar el contagio.

También tuvo Orfila ocasión de actuar con motivo de la epidemia de Fiebre amarilla del 1821, que afectó a varias ciudades de España, Cádiz, Valencia, Barcelona, y otras ciudades europeas como

París. De igual modo vivió la epidemia de cólera de 1830, donde la gente sucumbía por las calles. Entonces la teoría miasmática estaba en boga, Thomas Wakley, fundador del *Lancet*, con motivo de esta epidemia de cólera, en un editorial manifiesta los muchos puntos oscuros y ya no se podían explicar todos los hechos.

El Dr. Orfila conocía muy bien, por ser de Mahón, su lazareto y los sistemas de cuarentena y aislamiento, como hemos visto en las bellas fotos de su enseñanza.

Fue, por tanto, un gran organizador de la enseñanza de la Medicina en cuanto a la formación hospitalaria, pertenecía al Consejo de Hospitales de París, pero en 1916 se había establecido la Real Hospitalidad Domiciliaria, que era un sistema de hospitalización domiciliaria, que hoy tanto destacamos y en la que había intervenido de notable forma. Fue el auténtico creador, con Breteau, de la Escuela de Medicina de Tour.

Cuando le destituyen del cargo de Decano, en el que permaneció 18 años, se organiza un verdadero tumulto, y sus alumnos le aclaman. Le sustituye Brouillard. Su estatua en reconocimiento a su abnegada e importante obra permanece en la Facultad de Medicina de París, en la rue des Saintes Pères, como sabe muy bien el Prof. Schüller.

Posteriormente, quizás como desagravio, en 1851 fue nombrado Presidente de la Academia de Medicina de Francia. Ésta es, pues, una vida y obra inaudita y de un prestigioso reconocimiento jamás logrado, que el Prof. Schüller, con su gran maestría y entusiasmo, tan vivamente ha rescatado del pasado y expuesto a su contemplación para quizás obtener futuras consideraciones. Muchas gracias.

CONTESTACIÓN DEL PROF. SCHÜLLER PÉREZ

Muchas gracias a los Profesores Sánchez Granjel, Moya, Gracia Guillén y Rey Calero. Todos ustedes han ilustrado, completado y añadido muchas cosas de gran interés al resumen de la vida y obra que yo he hecho de un gran químico y médico español. Yo he quedado maravillado de ver la vida y obra de este nuestro personaje digno de admirar, y siempre con una duda: ¿cómo y por qué fue silenciado tantos años?

Efectivamente, Prof. Moya, hay cosas que no pueden borrarse y

la vida y obra de Orfila es una de ellas; ahí queda en la historia francesa, española y universal. Él fue por motivos diversos que yo analizo dieciocho años Decano de la Facultad de Medicina de París, aparte de muchas otras cosas, nada fácil para un español; se lo dice una persona que se siente alumno de la Escuela Francesa de Medicina en los años de mi juventud. Fue un formidable psicopatólogo, además de médico legista y toxicólogo. Precisamente, con una persona que ha nombrado el Prof. Moya, el Dr. Cordella, Catedrático de Barcelona, visitamos el Lazareto de Mahón, donde está parte de la historia de las infecciones, las epidemias y las maneras de contenerlas; lo conservan muy bien las autoridades. Allí se ve muy bien cómo eran las cosas, cómo eran las epidemias, cómo se luchaba y se prevenía en lo posible contra las enfermedades infeccivas.

Prof. Diego Gracia, la vida y obra de Orfila se presta a múltiples enseñanzas, tiene mucha razón. Aquí, en el escrito, cito varias veces al Prof. Botella, que en tiempos y si mi memoria es feliz, organizó una sesión en esta Academia, y hay un libro al respecto cuya introducción la hizo el Prof. Jiménez Collado. El Prof. Botella escribió en el *ABC* una glosa a la figura de Orfila, así que han sido muchos los que han estudiado a Orfila. Precisamente, acompañando al Prof. Botella cuando éste era Presidente de nuestra Academia, acudimos a París y allí tuvimos ciertas interrelaciones con el asunto de Orfila. Efectivamente, yo digo que las ciencias son cosmopolitas; las ciencias y los científicos pertenecemos a nuestra época; la ciencia, afortunadamente, no tiene fronteras.

Prof. Rey Calero, recientemente visité el Lazareto de Mahón. Me invitó la Real Academia de Medicina de las Islas Baleares para que hablara de la proyección de Orfila. Nos quedamos impresionados de la magnífica obra del Lazareto, hecho hace muchos años: qué concepción de la epidemiología, los métodos de prevención y aislamiento; es digno de ver. Sin duda, tantas veces pueda ir a Mahón, volveré a visitar el Lazareto.

Muchas gracias por su atención, porque muchos de vosotros sois historiadores de la Medicina y grandes epidemiólogos.

AMPUTACIONES, MARCHA Y EVOLUCIÓN PROTÉSICA

AMPUTATIONS, WALKING AND PROSTHETICS DEVELOPMENT

Por el Ilmo. Sr. D. FELIPE PASCUAL GÓMEZ

Académico Correspondiente

Resumen

La falta o pérdida de un miembro es un hecho ligado a la historia del hombre desde sus orígenes. También desde los albores de la humanidad se ha buscado solución protésica para las amputaciones.

Con la mutilación del miembro inferior se pierde una de las funciones más importantes del ser humano: la marcha como capacidad de desplazamiento en posición bípeda.

Como acto quirúrgico la amputación debe tener como objetivo no solo salvar la vida, sino crear un nuevo órgano, el muñón de amputación, que permita adaptar una prótesis, para que el paciente pueda volver a caminar.

La mayor parte de las prótesis del pasado se han perdido como objetos inservibles. Algunos modelos recuperados en la práctica clínica nos permiten presentar los grandes avances en la evolución técnica de las prótesis en los últimos años.

Abstract

Deficiency or loss of limbs is bound to human history. From the beginning of the human race, prosthetics solutions have been researched for amputations.

With the mutilation of the lower limb, walking, one of the most important functions in the human being is lost.

The main object of surgical amputation is not only to save the life, but also to create a new organ, the stump, in order to adapt a prosthetic limb, so that the patient is able to walk again.

Most prostheses in the past have been lost like useless objects. Some models that have been saved for the clinical practice, allow us to present the biggest advances in prosthetic technique evolution in last time.

RESUMEN HISTÓRICO

La falta o pérdida de un miembro es un hecho ligado a la historia del hombre desde sus orígenes. Las luchas tribales, los accidentes, los castigos e incluso los motivos religiosos eran la causa más frecuente de esta pérdida en la antigüedad.

También desde los albores de la humanidad se ha buscado solución protésica para las amputaciones. Ambas, amputación y ortopedia han ido, por necesidad, inexorablemente unidas. La historia de la cirugía amputadora y la utilización de miembros artificiales han seguido un camino paralelo.

La amputación es considerada el más antiguo de los procedimientos quirúrgicos. Durante muchos años y siglos debió ser muy traumático y doloroso por la falta de anestesia. Para hacer hemostasia se aplastaba el muñón o se le introducía en aceite hirviendo para cauterizar los tejidos. Este hecho no era especialmente propicio para después adaptar una prótesis.

Es Celso (53 a.C. al 7 d.C.) quien hace una de las descripciones más completas sobre las amputaciones, recomendando el uso de la ligadura para el control de la hemorragia. Desgraciadamente estas técnicas quirúrgicas y su evolución cayeron en desuso, volviéndose de nuevo a la cauterización.

Este desfase y retroceso de la cirugía se traduce en un gran silencio respecto de las prótesis utilizadas.

Ya en el siglo XVI, Ambrosio Paré dio un gran impulso a la cirugía y a la ortopedia. En lo quirúrgico ideó la sutura para hacer hemostasia, y en la ortopedia diseñó prótesis más sofisticadas que las hasta entonces conocidas.

A partir del siglo XVII hay un destacado progreso con la introducción de nuevas técnicas quirúrgicas, que se correspondió, como después veremos, con un desarrollo de nuevas prótesis.

El nombre de Morel, quien introdujo el torniquete para controlar la hemorragia, así como los de Petit (1718), Chopart (1792), Syme, (1849), Pirogof (1854), Gritti (1857), Ricard (1897), etc. jalónan el final del s. XVIII y el s. XIX con nuevas técnicas quirúrgicas y niveles de amputación.

Con el advenimiento de la anestesia se comenzaron a conseguir muñones más funcionales, pudiendo anticipar razonablemente la curación de la herida.

Sin duda el impulso mayor que recibió la cirugía amputadora fue en el siglo XX, como consecuencia de las dos guerras mundiales y la gran cantidad de amputados en las mismas.

No podemos dejar de mencionar, ya en nuestros tiempos, los nombres de Burgess y Murdoch como las más importantes contribuciones de los últimos tiempos al campo de las amputaciones.

MUÑÓN: UN NUEVO ÓRGANO

La amputación es una cirugía para la prototización. Sólo por la toma de conciencia de esta realidad la amputación dejó de ser una cirugía terminal, para convertirse en una técnica que tiene en cuenta las posibilidades funcionales del muñón residual.

Ante toda amputación hay que tener como objetivo la creación de un nuevo órgano, que permita una buena adaptación protésica.

En nuestros tiempos se puede decir que, desde hace muchos años, existe en gran parte de los cirujanos una conciencia clara de la necesidad de conseguir no solo una buena morfología, sino también un adecuado equilibrio muscular en el muñón de amputación.

No obstante todavía en ocasiones la amputación conlleva una actitud derrotista, pensando que es una tarea indeseable, que se debe hacer en el menor tiempo posible, incluso por cirujanos poco experimentados.

Sin embargo la amputación debe ser considerada como el primer paso para el retorno del paciente a una vida normal. En consecuencia la amputación se debe proyectar con el mimo y cuidado que otras cirugías.

LA MARCHA EN EL AMPUTADO

La marcha, como capacidad de desplazamiento sobre los miembros inferiores, es una de las funciones más importantes para el ser humano.

La amputación del M. Inferior lleva inherente, no ya una alteración en la marcha, sino la ausencia de la misma, tal como en su definición la entendemos.

Pero la amputación no solo supone la pérdida de un miembro, sino una ruptura de la integridad física y psíquica en el individuo que la padece.

En la amputación es la persona toda la que está alterada, y tal amputación y sus complejas consecuencias van a repercutir en todos los aspectos de su vida y de su entorno.

Desde el punto de vista físico, la amputación del m. inferior supone la pérdida estructural del soporte para la bipedestación, así como la pérdida de la función dinámica, que permite la de ambulación y la marcha.

Desde el punto de vista psíquico, cuando el paciente se enfrenta a la amputación, después de un accidente, en el curso de un proceso tumoral, o incluso en la evolución de una enfermedad crónica, sufre un trauma psíquico muy importante que afecta a lo más íntimo de su ser y va a condicionar el proceso de su rehabilitación.

El hecho de la amputación es una realidad que le sobrepasa y el paciente reacciona con una sensación de impotencia, frustración y rechazo.

A esta primera reacción sigue un proceso psicológico, primero de inhibición defensiva, y más tarde de reconocimiento y aceptación.

Todo amputado siente un deseo innato de volver a caminar. Sólo con la adaptación protésica, la marcha viene a ser posible de nuevo en los amputados.

La capacidad de recuperar la marcha está determinada, además, por múltiples factores como el estado físico, la edad, el nivel de amputación y la aplicación de una adecuada técnica quirúrgica, que tenga en cuenta las posibilidades de recuperación con una prótesis, utilizando la musculatura remanente.

La tecnología protésica, con su evolución y desarrollo, lucha cada día para facilitar de nuevo al amputado la deambulacion, y para tratar de acercarse lo más posible a los parámetros normales de la locomoción humana.

Las prótesis habituales proporcionan un buen soporte, pero no tienen la actividad dinámica de la contracción muscular. Por eso, a pesar de los avances conseguidos, sigue habiendo una asimetría en la marcha. Esta asimetría o cojera siempre es perceptible, sino clínicamente, al menos con las técnicas especiales de exploración.

EVOLUCIÓN PROTÉSICA

Breve reseña histórica hasta mediados del siglo xx

Es difícil imaginarse al hombre amputado, aún en los orígenes de la Historia, y no hacerlo pensando en él con algún tipo de aparato, aún rudimentario, que pudiera satisfacer de alguna manera su necesidad de caminar. Sin embargo no tenemos referencias históricas de una prótesis de miembro inferior hasta aproximadamente el año 500 a.C.

Herodoto cuenta la historia de Hegesistrato, hecho prisionero y condenado a muerte el 484 a. C., quien para escapar no dudó en cortarse el pie y liberarse así de las argollas que lo tenían amarrado por el tobillo. Más tarde cuando fue hecho prisionero de nuevo, se le encontró con un pie de madera que él mismo se había confeccionado y adaptado.

La más antigua prótesis de m. inferior conocida se encuentra en el museo de cirugía del Royal Colege de Londres. Fue encontrada en el 1858 en una antigua tumba en la ciudad italiana de Capri, y cuyo origen puede estar en torno al 300 a.C., en los albores del Imperio Romano.

A pesar del impulso prometedor de Celso, previo a la era cristiana, el desarrollo de la cirugía y de la protésica sufrió escasa evolución durante muchos siglos.

Durante la edad media existe un enorme vacío en la Medicina, y esto mismo ocurre en lo referente a documentos históricos de adaptación protésica.

Con Ambrosio Paré (1510-1590) hay un importante resurgir. Para él amputar no era solo para salvar la vida del enfermo, sino darle la posibilidad de reanudar su actividad. Él mismo hacía el seguimiento de la adaptación protésica. El «pequeño Lorrain» construía las prótesis bajo su dirección.

Durante los siglos XVII, XVIII y XIX otras figuras destacaron en el campo de la técnica protésica del m. inferior.

Verduin (1696) fue un cirujano alemán, que ideó una prótesis para las amputaciones por debajo de la rodilla, que en cierto modo nos recuerda ya a las prótesis modernas.

En 1775 Ravaton construyó una prótesis de cuero, rellena de pelo de caballo para almohadillar el encaje y dotada de un pie cuya flexo-extensión era controlada por un muelle en espiral.

En Alemania, en 1810, destacó Johan Georg von Heine, conocido como el padre de la ortopedia germana, que construyó una prótesis para miembro inferior en la que introducía una bola en la articulación del tobillo.

En 1831 Goyrand usó por primera vez la tuberosidad isquiática como punto de apoyo en las prótesis de muslo.

En 1839, Willian Selpho, un trabajador empleado de Potts, introdujo la pierna Anglesa en los Estados Unidos, y la modificó incluyendo un taco de goma en la articulación del tobillo y una suela en la planta del pie para reducir los ruidos y dar más elasticidad.

Benjamin F. Palme, un amputado de los Estados Unidos, en 1846 patentó su propia prótesis, por las modificaciones hechas a la de Selpho.

El interés que suscitó llevó a otros fabricantes a introducir modificaciones o mejoras y a buscar sus propias patentes.

Dubois de Parmelee patentó en 1863 un encaje de succión, construido con madera, cuero y metal. No tuvo entonces demasiado éxito y cayó prácticamente en el olvido hasta la segunda mitad del s. xx.

La literatura que describe los desarrollos obtenidos en las prótesis a lo largo del s. xix nos muestra que en muchos casos los fabricantes de prótesis eran amputados que se hacían sus propias prótesis, y aportaban las mejoras basadas en sus experiencias personales.

El siglo xx, en su primera mitad, está marcado en el campo de las amputaciones por los acontecimientos de las dos guerras mundiales.

Los numerosos soldados amputados surgidos de la primera guerra mundial requerían prótesis artificiales. Este hecho dio la oportunidad de mejorar las prótesis existentes y de dar un impulso grande a la industria ortopédica.

La 2ª guerra mundial volvió a poner en evidencia la necesidad de investigar en el campo de las amputaciones y las prótesis. Los gobiernos no fueron sordos al clamor social de los amputados de guerra y dieron facilidades para su mejor tratamiento, creando centros monográficos especializados en traumatismos de guerra.

Todo esto condujo a un desarrollo de las prótesis en la última parte del siglo XX, que vamos a exponer a continuación.

Segunda mitad del siglo xx: últimos avances

A lo largo de la segunda mitad del siglo xx, las prótesis han experimentado el mayor desarrollo tecnológico. Hasta mediados de

este siglo la adaptación protésica era casi exclusivamente empírica y artesanal. A partir de los años cincuenta se dan los pasos más importantes en la investigación protésica, tanto en sus componentes y materiales como en su biomecánica.

Desgraciadamente la mayor parte de las prótesis usadas se han perdido con el paso del tiempo, tiradas a la basura como objetos inservibles. Sin embargo, queremos hacer el resto de esta exposición apoyados fundamentalmente en las prótesis que hemos logrado recuperar, escogiendo aquellos modelos que son representativos de esta evolución.

No es de extrañar que la transición fuera lenta. A pesar del esfuerzo encomiable de nuestros técnicos, al amputado antiguo le costaba desprenderse de su vieja prótesis, como en ocasiones cuesta desprenderse de unos viejos zapatos. Por eso, incluso hasta nuestros días, hemos encontrado por nuestras calles algún amputado usando su ya vetusta «pata de palo»

Para ajustarnos al tiempo, limitaremos la exposición a los modelos de prótesis más usados en las amputaciones transtibiales y transfemorales.

Prótesis en las amputaciones transtibiales

La evolución tecnológica de las prótesis siempre está en relación con el desarrollo conseguido en sus componentes, tanto en los materiales empleados, como en su forma y adaptación biomecánica.

Las prótesis de pierna tienen como principales componentes el encaje, la pantorrilla y el pie. Como medio complementario, generalmente muy en relación con el encaje, el medio de sujeción de la prótesis. La evolución técnica de sus componentes es independiente, aunque en cierta medida paralela. De modo que, aunque un tipo de encaje se puede combinar con diversos tipos de pie, en la práctica los encajes más antiguos se han usado con los pies más antiguos y los encajes más modernos con los pies de ulterior desarrollo.

Esto nos va a permitir, siquiera sea por razones de claridad, mostrarles una serie de modelos protésicos, pertenecientes a épocas distintas, que nos pondrán en evidencia este proceso de transformación de la ortopedia en los últimos años.

Prótesis de pierna con encaje redondo y corselete de muslo

Se la puede considerar como herencia del pasado. Nosotros la hemos encontrado en algunos amputados antiguos que han pasado por la consulta del hospital.

Manufacturada en metal, tenía el encaje redondo, lo que no permitía una buena adaptación al muñón de amputación.

Para evitar el exceso de presión, se usaban amplios vendajes al rededor del muñón y se asociaba además un corselete de muslo para sujetar la prótesis y soportar el peso también por encima de la rodilla.

Los pies usados en estas prótesis antiguas eran bastante rudimentarios y de fabricación artesanal.

La prótesis PTB

En 1958 Radcliffe y Foort, desarrollaron el encaje PTB (Patelar Tendon Bearing), que busca un mejor reparto de las presiones teniendo en cuenta la anatomía del muñón.

El encaje PTB consigue amplias zonas de apoyo, entre las que destaca por su importancia el área del tendón rotuliano (de ahí su nombre).

Las estructura externa de la prótesis se hace con resinas acrílicas laminadas, e idearon para suspender la prótesis una correa supracondilar, que permite una aceptable sujeción, aunque no exenta de inconvenientes como la excesiva presión en los tejidos.

El pie, que a lo largo de los años veremos como sufre una importante evolución, era en aquellas prótesis bastante sencillo y funcional.

Habitualmente se adaptaba el pie SACH (Solid Ankle Cushion Heel), prototipo de pie rígido, sin articulación de tobillo.

Consiste en una pieza de madera, rodeada por material de caucho flexible al rededor de la misma y una cuña de goma esponjosa a nivel del talón

Aunque no lleva articulación, simula la movilidad del tobillo por la cuña blanda posterior, que amortigua el impacto del talón y permite un coordinado movimiento en el apoyo plantar y despegue del pie.

Otro modelo de pie que se usaba con frecuencia era el pie articulado, con un solo movimiento de flexo-extensión.

Prótesis KBM

En 1966, Kühn desarrolla la prótesis KBM (Kondilar Bettung Munster) como una modificación de la PTB.

La prolongación de los alerones laterales del encaje conformando la anatomía condilar permitía la suspensión por una cuña situada sobre el cóndilo interno, a la vez que daba al encaje una mayor estabilidad mediolateral.

Desde finales de los setenta y durante muchos años, incluyendo algunas variantes, ha sido el modelo de elección.

Los pies usados para la prótesis KBM fueron al principio los mismos que se venían usando en la PTB, pero pronto se diseñaron nuevos pies, que hacían presagiar la posterior evolución.

El pie dinámico es un pie SACH, pero en el que destacan algunas características dignas de tenerse en cuenta: la quilla, más corta, está formada por madera con espuma inyectada y el resto es un material plástico de gran elasticidad.

El pie articulado de eje múltiple permite la flexo-extensión, pero además movimientos en cualquier dirección incluida la inversión, eversión y un pequeño grado de rotación.

Sistemas 3 S e ICEROSS

Durante varios años se trabajó en busca de un encaje de contacto total y con succión, pero los resultados fueron poco satisfactorios, dada la especial anatomía de la articulación de la rodilla.

En 1986, Ossur Kristiansson, publicó un nuevo método conocido como ICEROSS. (Icelandic Roll Os Succión Socket). El sistema consiste en una vaina de silicona, que se adapta perfectamente al muñón de amputación y se sujeta al encaje duro mediante broches de presión. En este modelo la vaina de silicona se usa como elemento interpuesto entre el muñón y el encaje y también como medio de suspensión por succión.

El sistema 3S (Silicone Succión Socket) desarrollado por Karl Filauer está basado en el método de Ossur Kristiansson, y hace un encaje de silicona a la medida.

Por estos años se empiezan a fabricar los pies protésicos de última generación con los diseños más audaces. La aplicación de la fibra de carbono en su construcción, ha dado a éstos una nueva di-

mención en su desarrollo y propiedades. El resultado son los llamados «*pies acumuladores de energía*» ó de *respuesta dinámica*.

Los pies de respuesta dinámica representan un desarrollo superior sobre los que solo amortiguan el impacto. Cuando el talón apoya en el suelo, absorbe y acumula una energía que es aprovechada para impulsar el pie hacia el apoyo medio. Cuando se apoya en el antepié, acumula una energía que es liberada para el despegue.

La pantorrilla. Prótesis exoesquelética y endoesquelética

Habrá llamado la atención, sin duda, como los últimos modelos presentados nos muestran un esqueleto interno que sirve de unión y transmisión de fuerzas entre el encaje y el pié. Son las llamadas prótesis endoesqueléticas, fabricadas con tubos que pueden ser de acero, aluminio, titanio o incluso fibra de carbono. Su aspecto cos-mético externo se consigue por una gomaespuma, a la que se da la forma similar al miembro sano contralateral.

Prótesis en las amputaciones transfemorales

Si las prótesis por debajo de la rodilla han sufrido una importante evolución, como acabamos de ver, en las prótesis para amputación femoral el desarrollo tecnológico ha sido, si cabe, más espectacular.

Todos sus componentes han experimentado innovaciones, pero el hecho de llevar una articulación mecánica tan importante como la rodilla, sobre la que se ha dedicado imaginación y esfuerzo investigador, hace que en su conjunto aparezca de una manera más clara el importante desarrollo tecnológico.

Las prótesis que se venían usando al comenzar la segunda mitad del s. XX eran bastante simples en su concepción, aunque funcionalmente aceptables.

La «pata de palo»

No podemos resistirnos a presentar esta prótesis. Siempre nos ha llamado la atención que a finales del s. XX, después de ver prótesis

bastante desarrolladas en tiempos anteriores, siguiera existiendo la prótesis de madera más elemental: la pata de palo.

Como uno no puede pensar que se haya dado una involución en la tecnología protésica, quizás nunca se perdió su uso desde tiempos primitivos, quedando las más elaboradas como prótesis de los ricos, y ésta como prótesis más sencilla o quizás como prótesis de los pobres.

Hemos tenido ocasión de ver en nuestra práctica clínica algunas de ellas y uno se queda admirado de su funcionalidad y de cómo el enfermo es dependiente de ella y no la quiere cambiar por ninguna de las prótesis más actuales.

No nos consta que tales prótesis fueran fabricadas por los profesionales ortopédicos, siendo más probable que fuera el propio amputado el que se fabricara su propia prótesis.

No deja de ser curioso cómo en algunas de ellas incluían un sistema articular con bloqueo que permitía al paciente permanecer sentado de una manera más cómoda.

Prótesis exoesquelética metálica con encaje circular y rodilla libre

Por la década de los cincuenta, éstas eran las prótesis más frecuentes para las amputaciones de muslo.

Eran prótesis metálicas, con la forma anatómica del miembro inferior, a la que se le ponía una articulación de rodilla y pie muy sencillos.

El encaje, construido en metal, responde al modelo más primitivo: *El encaje tapón*. Su interior reproduce una forma cónica, bastante similar al aspecto externo del muñón de un amputado de muslo, sin tener en cuenta las estructuras internas, su contextura y sobre todo su adaptación funcional en el movimiento.

Este tipo de encaje no permite que la musculatura del muñón trabaje, por lo que pronto va a generarse una atrofia muscular importante y a desplazar los demás tejidos hacia la parte superior.

La articulación mecánica de rodilla en estas prótesis tenía un solo eje, que permitía el movimiento de flexión y extensión.

La seguridad en la carga se conseguía por la extensión de la cadera y el desplazamiento del peso por delante del eje articular.

Habitualmente no tenían ningún dispositivo de control del movimiento en la fase de balanceo, lo que hacía que el movimiento

pendular de la prótesis estuviera en relación con la fuerza del impulso y la velocidad de la marcha.

Prótesis de encaje cuadrangular. Evolución de la rodilla

Entre los años 1950 y 1960 se desarrolló el llamado encaje cuadrangular, uno de los que más ha hecho avanzar en los nuevos conceptos biomecánicos de la prótesis, al permitir la carga sobre la pared posterior a través del isquion.

Su nombre se debe a la forma que ofrece en la parte superior, teniendo en cuenta la textura de los tejidos, para conseguir una mejor distribución de las presiones. El contorno interno de sus cuatro paredes ofrece algunos entrantes y salientes. Los entrantes permiten ejercer una mayor presión en las zonas blandas; los salientes evitan las presiones excesivas sobre prominencias óseas, tendones o músculos contraídos.

En los años sesenta el material utilizado eran el aluminio y la madera, que poco a poco fueron sustituidos por las resinas acrílicas, que permitían una más fácil confección.

Las rodillas por estos años sufrieron una importante evolución.

Dos problemas preocupaban especialmente en el uso de las antiguas rodillas: La inseguridad durante el apoyo, y la falta de control del movimiento en la fase de balanceo.

Para dar seguridad en el apoyo, se desarrollaron las rodillas de bloqueo y las rodillas con un sistema de freno a la carga.

Para controlar el movimiento de la rodilla en la fase de oscilación, se pusieron sistemas de fricción constante o variable y mecanismos de ayuda a la extensión.

Un desarrollo posterior fueron las rodillas policéntricas. Los bloques superior e inferior de la articulación están unidos por medio de barras laterales, que unen entre si diversos ejes dos a dos. Con ello se consigue un centro de rotación móvil, que proporciona una mayor estabilidad en la carga

Prótesis endoesqueléticas y modulares

Desde los años setenta las prótesis comienzan a ser mayoritariamente endoesqueléticas, cuya estructura de soporte para aguantar

el peso del individuo, esta formada por un esqueleto interno a la misma.

Pareja a esta concepción de prótesis con un eje interno va el de las prótesis construida por elementos intercambiables o módulos, que permiten una fácil unión o sustitución de sus componentes.

Con el acero y el aluminio primero y más tarde con el titanio y la fibra de carbono, las prótesis endoesqueléticas y modulares se han convertido desde hace muchos años en los modelos de elección.

Para estas prótesis se desarrollan una gran cantidad de articulaciones modulares de rodilla, buscando siempre la seguridad en la carga y el movimiento más armónico en la fase de balanceo.

Aplicación de los sistemas hidráulico y neumático en la fase de oscilación

Las rodillas hidráulicas y neumáticas son la última generación de rodillas mecánicas. En ambos sistemas se trata de encontrar el mecanismo que modifique el movimiento dependiendo del valor angular de la fase de balanceo.

Un fluido, metido en un cilindro, y obligado a salir por un pequeño orificio, ofrece más resistencia cuanto menor es el orificio de salida y cuanto mayor es la presión que sobre él se ejerce.

Se consigue por este medio que en los valores angulares máximos y mínimos la resistencia sea muy grande y la velocidad muy pequeña, mientras que en la fase de balanceo medio se puede conseguir resistencia mínima con velocidad mayor.

Igualmente este dispositivo modifica la resistencia con la velocidad de la marcha. Si se marcha muy deprisa, el paso del fluido encuentra más resistencia, y hace que la prótesis no se desplace tan rápidamente, impidiendo así los choques bruscos de la prótesis en la fase de balanceo.

El médico o el técnico protésico regulan la resistencia a la flexión y la extensión para un tipo de marcha (el más frecuente en el amputado). El amputado acompasa su velocidad con la cadencia seleccionada, con lo que se produce la resistencia adecuada.

Existe también la posibilidad de que la regulación para una determinada cadencia de paso se realice por un microprocesador y no por el técnico. Son las llamadas prótesis inteligentes o cibernéticas.

Prótesis con encaje CAT-CAM (Contoured Adducted Trochanteric-Controlled Alignment Method)

También llamado de medida mediolateral estrecha, este encaje fue puesto a punto por John Sabolich por los años setenta, para tratar de solventar algunos problemas biomecánicos que se le han achacado al encaje cuadrangular.

Las características principales son el incluir el isquion en el interior del encaje y forzar al máximo la adducción para permitir un mejor trabajo del glúteo mediano en la fase de apoyo medio, evitando todo desplazamiento del fémur dentro del encaje.

Plásticos termoconformados: Encaje transparente y flexible «ISNY»

Ha sido o es una aportación de los últimos años en la fabricación de los encajes de las prótesis, aunque los primeros ensayos se remontan a la década de los setenta. Las siglas hacen referencia a las iniciales de los países que participaron en su desarrollo (Islandia, Suecia, New York)

El encaje se realiza por un sistema de moldeado al vacío, con un termoplástico transparente y flexible, que es soportado por una horquilla de plástico laminado, reforzada con fibra de carbono.

El encaje confeccionado con este tipo de material presenta algunas ventajas, como son la posibilidad de poder observar el estado del muñón, y una cierta adaptación a las modificaciones que se operan en el muñón por la contracción muscular en la marcha.

Medios de suspensión

El modo de sujetar la prótesis al paciente siempre ha sido un problema, en ocasiones no fácil de solucionar.

El sistema más antiguo era un arnés o correa de cuero, que suspendía la prótesis por medio de un cinturón, cuando las prótesis eran demasiado pesadas.

Más adelante, con prótesis menos pesadas, incluido un buen ajuste en el muñón, se usó un elemento más sencillo como el cinturón silesiano o el cinturón de neopreno.

Sin duda el medio de suspensión por antonomasia en las prótesis de muslo es el sistema de succión. Un ajuste perfecto entre el

encaje y el muñón, junto con una válvula de vacío, permite que la prótesis quede perfectamente anclada.

ICEROSS de muslo

En los últimos años se ha comenzado a usar con éxito el sistema previamente aplicado en las prótesis por debajo de la rodilla y conocido como sistema ICEROSS, que mantiene la succión por medio de una vaina de silicona.

BIBLIOGRAFÍA CONSULTADA

1. ATLAS OF LIMBS PROSTHETICS (1981): «Surgical and Prosthetic Principles». Am. Ac. of Orth. Surg. Mosby Co. St Louis
2. BURGESS, E.M.; TRAUB, J.E.; BENNET WILSON, A. (1967): «Inmediate post-surgical prosthetics in the management of lower extremity amputees». *Prosthetics and Sensory Aids Service Veterans Administrations*.
3. BURGESS, E.M.; ROMANO, R.L.; ZETTL, J.H. (1969): «The Management of Lower Extremity Amputations Surgery. Inmediate Postsurgical Prosthetics Fitting Patient Care». *Prosthetics Research Study Seattle*. Washington.
4. FRIEDMANN, L.W. (1972): «Amputations and Prostheses in Primitive Cultures». *Bulletin of Prosthetic Research*. Spring 105-138.
5. LYQUIST, E. (1970): *Recent variants of the PTB prosthesis (PTB, KBM and air cushion sockets) In Prosthetic and Orthotic Practice*. Edit Murdoch, G. pp. 79-88. London.
6. McDONALD, J. (1905): «History of Artificial Limbs». *Am. J. Surg.* 19. 76-80.
7. MURDOCH, G. (1977): «Amputation Surgery en the lower extremities-2». *Prosthetics and Orthotics International*. 1.3. 183-192.
8. MURDOCH, G. (1977): «Amputation Surgery in the lower extremity». *Prosthetic and Orthotics International*. 1. 2. 72-83.
9. ORTHOPAEDIC AMPLIANCES ATLAS (1960): *American Academy of Orthopaedic Surgeons. Historical Development of Artificial Limbs*. Volume 2. J.W. Edwards - Ann Arbor. Michigan.
10. PUTTI, V. (1929): «Historic Artificial Limbs». *Am. J. Surg.* 6. 111-117, 246-253.
11. RADCLIFFE, C.W. y EBERHART, D.H. (1981): «Aplicaciones to Lower Limb Prosthetics». En *Human Walking* (Editado por Lieberman, J.C) Williams and Wilking. Baltimore. USA. 129-148.
12. RIPPSTEIN (1978): «El nivel de amputación». En: *Problemática de los amputados de la extremidad inferior*. II Symposium Internacional de Rehabilitación. Edit. Mapfre. Madrid.

INTERVENCIONES

Prof. Rodríguez Rodríguez

El Dr. D. Felipe Pascual Gómez ha relacionado que hace 25 años, cuando se incorporó en el Servicio de rehabilitación que regento, le señalé que sería importante que se dedicara a una parcela específica de Medicina Física y Rehabilitación, concretamente los pacientes amputados y el aspecto específico ortoprotésico. Puedo decir con verdadero honor que su dedicación es y ha sido excelente y fecunda, tanto es así, que por él, nuestro Hospital Clínico de San Carlos es referente en este campo. No sólo se ha dedicado a la labor asistencial, además ha enseñado en todos los niveles académicos y se ha volcado incluso en la técnica ortopédica.

Han podido apreciar el desvelo con la recogida y estudio evolutivo histórico de los últimos años, desde las prótesis rudimentarias efectuadas con materiales de aquella época, como la madera, el paso a las diversas mezclas de plásticos, acrílicos, o de la alta tecnología de aleaciones recientes, así como los diversos encajes, etc.

Su interés no podía dejar de separarse de este campo y así realizó ya hace años su tesis doctoral sobre prótesis de columna vertebral.

Manifestar hoy su magnífica conferencia no es sino decir que sólo el que tiene mucho conocimiento es capaz de señalar en un reducido tiempo, grandes ideas, con claridad y rigurosidad. Mi más grata felicitación, amigo Felipe Pascual, por tu primera aportación a nuestra Academia.

Prof. Castillo-Ojugas

Agradezco la oportunidad que nos ha ofrecido el Prof. Pascual para ponerme al día de los avances de las prótesis. Por haber formado parte trabajando como reumatólogo en los primeros años de mi vida profesional en los Departamentos de Cirugía Ortopédica y Rehabilitación hasta que fueron creados los Servicios de Reumatología, tuve que ver muchos apuntados que llevaban unas prótesis de las que pudiéramos llamar «históricas» y empezaban a verse modelos contruidos con nuevos materiales, avances que fueron posibles como consecuencia de la Guerra Mundial y que hoy son tan eficientes permitiendo hasta realizar proezas deportivas.

Ha hecho muy bien el Prof. Pascual en citar sólo someramente la historia de las prótesis desde aquella de Celso hasta las de Ambrosio Paré, para centrar su comunicación en mostrar los avances técnicos actuales; mas, como aficionado al Arte, puedo decirle que he recopilado más de ciento cincuenta ejemplos de lo más variados de prótesis y apoyos inverosímiles en las tablas de los primitivos maestros castellanos, flamencos, alemanes o italianos, en los numerosos pobres que reciben la capa de San Martín y no digamos nada de aquellos inválidos que aparecen en las tablas y dibujos de El Bosco o de Brueghel el Viejo. Este tema me gustaría comentarlo en otro momento con el Prof. Pascual, al que de nuevo agradezco la exposición tan clara, tan precisa y tan didáctica que ha hecho.

Prof. Moya Pueyo

El estudio que termina de exponer y el análisis histórico acerca de la evolución de la prótesis de extremidad inferior es verdaderamente modélico, tanto desde el punto de vista de los fundamentos considerados en cada momento como de la respuesta a los mismos a través de las distintas clases de aparatos ideados para ello.

En el momento actual y teniendo en cuenta los grandes progresos experimentados, así como el rendimiento funcional de las tecnologías más recientes, quisiera hacerle tres preguntas:

1.^a ¿Cómo quedan la bipedestación y la deambulacion en relacion con las actividades de la vida ordinaria?

2.^a ¿Qué limitaciones existen en la práctica de los deportes más difundidos en la actualidad?

3.^a ¿En qué cuantía pueden reducirse las mermas anatómicas y funcionales a la hora de establecer el daño producido en la extremidad inferior?

CONTESTACIÓN

Al Prof. Luis Pablo Rodríguez

En primer lugar, Prof. Rodríguez, gracias por sus palabras, que sin duda se deben más a su afecto que al mérito en la exposición. Efectivamente, ésta ha sido mi primera intervención ante esta ilus-

tre corporación. Puedo decir con sinceridad que, a pesar de los años, de mis años, y al margen de la experiencia que se pueda tener de hablar en público, esta tarde he sentido un gran respeto al dirigirme por primera vez a tan ilustres maestros de la ciencia y de la palabra.

Efectivamente, hace ya veinticinco años que me animó a deciar-me a la Ortopedia dentro del campo de la Rehabilitación en el Hospital de San Carlos. Nunca hasta entonces lo había pensado, y, por supuesto, no imaginaba que me fuera a apasionar como lo ha hecho a lo largo de mi vida profesional. No creo que esto sea suficiente para hacer que nuestro medio sea referente en esta materia, pero sus palabras me dan ánimos para seguir aprendiendo y enseñando en este campo de la Medicina. Gracias de nuevo, Prof. Rodríguez.

Al Prof. Castillo-Ojugas

Prof. Castillo-Ojugas, yo he tenido la dicha de escucharle, tiempo atrás, una magnífica conferencia en la que mostró sus grandes conocimientos en relación al Arte y la Discapacidad. Fue un verdadero placer disfrutar también de su extensa y cuidada iconografía al respecto. La historia de la Ortopedia sin duda merece acercarse a ella desde diversos ángulos para enriquecernos. Nosotros lo hemos hecho desde nuestra experiencia clínica y haciendo una comparación con los diversos modelos protésicos que hemos logrado recuperar, ya que la mayor parte son abandonados, destruidos o tirados a la basura.

Agradezco su aportación y estoy seguro que tendremos ocasión de poner en común algunas de estas experiencias.

Al Prof. Moya Pueyo

Prof. Moya, muchas gracias por su apreciación y deferencia.

Sus preguntas son realmente importantes y de una gran lógica y cohesión, si se tienen en cuenta los avances actuales en la técnica ortopédica.

La bipedestación y la marcha son funciones que se consiguen muy bien con las prótesis actuales, y con gran aproximación a las

que se dan en las personas sanas. En muchas ocasiones es difícil adivinar si una persona es portadora de una prótesis. Evidentemente, influirá el nivel de amputación y, por supuesto, la edad y patología del paciente. Pero las prótesis actuales permiten disimular muy bien la falta de un miembro inferior en la vida ordinaria.

En cuanto al deporte, su pregunta añade un grado de complejidad. ¿Existen limitaciones para los deportes por el uso de una prótesis? Ciertamente que hay deportes, fundamentalmente los de contacto, en los que es difícil su práctica en estas circunstancias. Pero existen otros como la carrera, el salto, etc., en los que la tecnología actual permite alcanzar marcas muy próximas a las conseguidas por personas no amputadas.

Su tercera pregunta me resulta más difícil de contestar. Si bien es verdad que con la prótesis el amputado recupera funciones perdidas y que, por lo tanto, este hecho podría reducir su menoscabo, o la valoración que de él se haga, sin embargo esta recuperación no es permanente, de modo que en algún momento, antes o después, dejará de usar la prótesis y se verá relegado a la silla de ruedas.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

Mi felicitación al Dr. Felipe Pascual por esta interesante comunicación que tanto nos ha ilustrado; una cosa que habitualmente no conocemos relativamente, pero sí sus consecuencias. Hay que felicitar a las personas que se dedican a estas cuestiones por tratar de vencer esa discapacidad, que es, como bien has dicho al principio, indudablemente física por el hecho en sí, pero por otra parte origina una alteración psicológica natural.

Se levanta la sesión.

SESIÓN NECROLÓGICA

**EN MEMORIA DEL EXCMO. SR.
D. PEDRO ZARCO GUTIÉRREZ**

DÍA 14 DE OCTUBRE DE 2003

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

DISCURSO DE PRECEPTO

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

Académico de Número

INTERVENCIONES:

- **Prof. Suárez Fernández**
- **Prof. Portera Sánchez**
- **Prof. Alonso Fernández**
- **Prof. Durán Sacristán**
- **Prof. Reinoso Suárez**

La Junta Directiva de la Real Academia Nacional de Medicina me ha encargado la triste tarea de realizar el discurso de precepto en esta sesión necrológica en memoria del que fue Académico de Numero de esta Corporación, el Excmo.Sr.D.Pedro Zarco Gutiérrez. El profundo pesar que me embarga en estos momentos no puede ser mitigado por nada, ni tan siquiera por haber tenido la suerte de haberle conocido, haber recibido sus enseñanzas, haber sido su amigo, o de haber podido compartir en sus últimos años muchas de sus inquietudes tanto científicas como personales que me hicieron conocer mejor a un hombre excepcional.

Sin duda Pedro Zarco ha sido una de las figuras mas importantes y trascendentes de la cardiología del siglo que acaba de terminar. Cardiólogo casi por azar, fue capaz de construir una nueva cardiología, escogiendo un camino poco común pero a la postre auténticamente lleno de verdad. Pedro Zarco tuvo muchas dificultades para realizar la que hoy debemos reconocer como su obra, para consolidarla y para ser aceptado tal como era. Una persona atípica en un mundo científico y académico muy convencional, que entra en la Historia de la Medicina por la puerta grande.

A nuestro juicio, se producen en su vida tres impactos de gran calado que sin duda le marcaron, estableciéndose en él un compromiso personal que mantuvo activo mientras vivió y al que nunca traicionó. Estos hechos fueron la muerte de su padre, el ambiente cultural que vivió en su juventud y su encuentro con Paul Wood. Su padre, Pedro Zarco Bohórquez había nacido en Ubrique (Cádiz) en 1887. Fue médico militar y del Instituto de Higiene de Alfonso XIII. En 1925 ingresó, por oposición, en el cuerpo facultativo del Hospital del Rey en donde fue Jefe de Clínicas desarrollando una gran labor dentro del área de las enfermedades infecciosas concretamente sobre la viruela. Gran médico, con enorme dedicación a su profesión y carisma personal, realizó importantes aportaciones en el campo de la tuberculosis, algunas, siendo Director del Sanatorio de Valdelatas, de gran trascendencia en relación a la posibilidad de transmisión de la tuberculosis de la madre al hijo. Demostró que el hijo de una madre tuberculosa nace sano y que la tuberculosis no era una enfermedad hereditaria. Su libro *Tuberculosis y Embarazo* tuvo gran impacto por estas aportaciones. Su pronta muerte a los 55 años como consecuencia de la enfermedad a la que con profunda entrega se dedicó, afectó profundamente a Pedro Zarco además de privarle de una guía en su formación posterior. Con la pérdida

de su padre se quedó sin la gran referencia emocional que le sujetaba a cuanto estaba comenzando a construir en su vida.

El segundo impacto ocurre en sus años de formación, en que quedó marcada su personalidad y compromiso vital. Tuvo la fortuna de entrar de la mano de ese gran cirujano y hombre de gran sensibilidad y cultura, el doctor Plácido González Duarte, en un mundo que le resultó fascinante. En plena formación tener la oportunidad de observar, escuchar, compartir, debatir y reflexionar con hombres como Pedro Laín Entralgo, Zubiri, Rof Carballo, Buero Vallejo o Duarte era un privilegio a los que pocos tenían acceso. Este mundo impregnado de intelectualidad, le fascina, le marca, le compromete y yo diría que incluso le obsesiona ser digno de él. Este ambiente liberal lleno de inquietudes en el que se educó puso en marcha en su persona lo que he denominado como *inconformismo respetuoso*. Este ambiente, como decimos, se contraponía a la pobreza cultural que encontraba en la Universidad y en su Facultad. Sin subestimar este dato de gran objetividad para él en base a su privilegiada posición intelectual, bien es cierto que España en esos momentos no estaba para muchos debates de este tipo en el foro universitario. Bastante había con sobrevivir a una situación de carencia absoluta incluso de lo más elemental y entre ellas, por supuesto, de este tipo de cosas.

El tercer impacto se produce cuando en 1961 acude al *Hammersmith Hospital* de Londres con una beca del British Council. Allí conoce a Paul Wood y a partir de ese momento se produce en Zarco una profunda transformación. Cambió la visión generalista que llevaba por la de especialista, adquiriendo un profundo respeto y admiración por el rigor científico. Como el decía había aprendido mas en seis meses durante esa estancia que durante diez años en España. Su retorno, hace que nuestro país cuente no solo con un nuevo cardiólogo, sino con un cardiólogo nuevo, un cardiólogo diferente con otra concepción muy distinta, que incorpora no ya solo las nuevas técnicas como la hemodinámica sino una nueva forma de pensar tan necesaria en esos momentos en la medicina española y en la especialidad que desarrolla. Podríamos decir sin temor a equivocarnos que fue un adelantado de lo que hoy denominamos medicina basada en la evidencia. Ya en esa época, y esto fue trascendente en Pedro Zarco, *apostó por la ciencia sin renunciar a la técnica*. Este principio que marcó su vida lo asumió profundamente, de la misma forma que respetó cuantos principios y conductas

incorporó en su vida y que muchos nunca entendieron. Pedro Zarco fue pues un hombre de ciencia, un científico, alejado de ese cientificismo, tan frecuente por otra parte en nuestro mundo actual.

SU VIDA. SU TRAYECTORIA

Pedro Zarco Gutiérrez nació en Madrid el 25 de marzo de 1929. Realizó sus estudios de medicina en la Facultad de Medicina de la Universidad Central, licenciándose en 1952 con la calificación de sobresaliente y accésit al premio extraordinario. Acabada la carrera comenzó a vivir intensamente la vida de San Carlos, trabajando como médico interno en la Cátedra que regentaba el profesor Vicente Gilsanz García, y asistiendo los fines de semana al Hospital de la Princesa junto a Plácido González Duarte. Por entonces Pedro Zarco se planteaba si especializarse en neurología o cardiología. Vivía en la misma casa, en la calle Guturbay, que don José Casas Sánchez y de esta cercanía nació entre este y su padre una buena amistad que favoreció que Pedro Zarco se incorporara, a su Cátedra que acababa de recuperar tras haber sido separado de ella después de la guerra civil.

En 1953 obtuvo, por oposición, la plaza de médico interno, en la Cátedra de Patología General del Hospital Clínico de San Carlos. A partir de este momento se volcó en la docencia, asistencia e investigación. Durante sus primeros años batalló duramente en las nuevas instalaciones del Hospital Clínico de San Carlos que compaginaba con los trabajos experimentales sobre equilibrio electrolítico que bajo la dirección de Francisco Grande Covián realizaba en el Instituto Iby (1952-1955). En 1957 obtuvo el grado de doctor en Medicina y Cirugía con la tesis doctoral titulada *La cromatografía sobre papel en el estudio de la aminoacidurias* que sería calificada con Sobresaliente y Premio Extraordinario.

Su profunda dedicación a la docencia es reconocida por su maestro que cada vez le asigna mas responsabilidades. En 1959 obtuvo por oposición la plaza de Profesor Adjunto de Patología General, siendo nombrado, tras diversos avatares, Profesor Adjunto Numerario en 1977 y Profesor Titular de Medicina en 1983. En esta época de su vida Pedro Zarco trabajó con un conjunto de compañeros, excepcionales como él mismo refería, que también incidieron sin duda en su formación y entre todos ellos su herma-

no Cristóbal por el Pedro profesaba auténtica admiración y reconocimiento.

Cuando Zarco se va a Inglaterra en 1957, la Cardiología española hacía pocos años había empezado a estructurarse. En realidad aunque existía ya una buena cardiología clínica muy dependiente de la medicina interna, su explosión definitiva vendría precisamente a partir de la década de los cincuenta. Hasta entonces, la cardiología se aprendía donde y como se podía. No existían lugares adecuados y solo la inquietud de algunos hacía de su clínica hospitalaria un lugar más idóneo y de referencia. En 1952 nació la Escuela de Cardioangiología de Barcelona, la primera, dentro de la Cátedra de Patología y Clínica Médicas que regentaba el que fue insigne académico Juan Gibert Queraltó y cuyo mismo sillón en esta Real Academia ocupó posteriormente Pedro Zarco.

En 1957 tuvo Pedro Zarco el primer contacto con la cardiología británica. Con una beca de Relaciones Culturales, trabajó en el *Heart Hospital, Institute of Cardiology of the British Postgraduate Medical Federation* de la Universidad de Londres. Aunque en 1959 se había desplazado, pensionado por la Fundación de Amo, a Los Angeles al *Cedars of Lebanon Hospital* de la Universidad de UCLA donde trabajó con Eliot Corday, Brian Hoffman y Travis Winsor y conocía bien la nueva cardiología, el mayor impacto en su formación y que más trascendencia tuvo en su formación y magisterio se produjo en 1961 en su primera estancia, casi por azar como comentaba el propio Zarco, en el *Hammersmith Hospital* de Londres a donde había acudido con una beca del British Council para trabajar con Paul Wood. Posteriormente en 1963 realizaría nuevas estancias en el mismo Hospital, también becado por el *British Council* esta vez para trabajar con John Goodwin.

A su vuelta en 1964 fue nombrado Jefe del Departamento de Exploración Cardiopulmonar y de la Unidad Coronaria del Hospital Clínico de San Carlos de Madrid, jefatura que desempeñó, aunque amputada, hasta el mismo día de su jubilación en 1999. Sin embargo, paradojas e injusticias de la vida, este gran cardiólogo nunca dispuso de camas de asistencia de la especialidad dentro de su servicio. Como el mismo señalaba con sorna en los últimos años «he sido un catedrático sin camas». En este sentido siempre pensó que las acabaría teniendo, pues él pensaba que la lógica acabaría por imponerse y en su ingenuidad no comprendió como circunstancias de otro tipo se hacían más fuertes con independencia de la

ciencia, la cual por otra parte ha sido víctima constante a lo largo de la historia de los efectos devastadores de determinada clase política.

En un momento determinado de su vida, su compromiso vital le colocó en una situación delicada. Como consecuencia de ello fue separado de la docencia de la Patología General y del Departamento de Exploración Cardiopulmonar y Unidad Coronaria del Hospital Clínico de San Carlos, aunque de la parte asistencial lo fuera tan solo unos meses pero quizás los suficientes para a su regreso ser privado de la Unidad Coronaria. Este último hecho tuvo una honda trascendencia histórica en este país, pues a partir de ese momento las unidades de coronarios caen en manos de otros especialistas y el liderazgo que hubiera supuesto el Hospital Clínico de San Carlos con su Unidad de Coronarios llevada por cardiólogos quedó así anulado. Apartado de la docencia de la Patología General, entre 1971 y 1976 aceptó ser profesor Ayudante de Fisiología en la Cátedra que regentaba el profesor Antonio Gallego encargándose durante estos años de explicar la fisiología del aparato circulatorio, compaginando dicha labor docente dando clases y seminarios en la Cátedra de Patología y Clínica Médicas que dirigía el profesor Vicente Gilsanz García.

Durante estos años vivió su dura travesía del desierto en la Universidad. Tras su separación temporal quedó de alguna forma marcado y aunque continuó trabajando lo hizo de alguna forma en solitario. Pocos se acercaron a él. Deberían transcurrir algunos años para que la Universidad viera en él algo más que un hombre peculiar, problemático, de personalidad compleja, que decía lo que quería, un rebelde al fin, aunque todos lo reconocían como referencia obligada en la Cardiología.

Aceptado definitivamente por todos obtuvo la Cátedra de Cardiología de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid en 1992, siendo nombrado Profesor Emérito de dicha Universidad desde 1999 y Académico de Número de esta Real Academia en el año 2001.

Que un médico como Pedro Zarco entre en la Historia de la Medicina es algo que no está al alcance de cualquiera. Es difícil porque para ello deben darse determinadas condiciones que hagan de la persona en cuestión cumpla, entre otros, una serie de requisitos que a nuestro juicio serían los siguientes: 1.- Su obra escrita, 2.- Su aportación científica, 3.- La relevancia de los puestos de res-

ponsabilidad que ocupó, 4.- La formación de escuela, y 5.- el reconocimiento de la comunidad científica y de la sociedad en general. Repasemos aunque sea de forma somera los méritos de Zarco para entrar en ese Olimpo donde están los mas grandes de nuestra medicina.

SU OBRA ESCRITA Y SU APORTACIÓN CIENTÍFICA

Muchas fueron las publicaciones que realizó Pedro Zarco a lo largo de su vida. Libros, publicaciones originales, revisiones de conjunto, reflexiones, así como artículos de divulgación. Todos ellos, llenos de seriedad y rigor siempre adecuado a quienes iban destinados. Sería imposible realizar en este momento ni tan siquiera un listado de ellos. Sin embargo si haremos algunas consideraciones sobre algunas de sus publicaciones.

Su libro *Exploración Clínica del Corazón* (Editorial Alhambra, Madrid, 1961), obra magna, alcanzó numerosas ediciones (1961, 1964, 1967, 1968, 1970, 1973, 1978, 1981, 1982, 1986). Este libro supuso de alguna forma la explosión de lo que Zarco llevaba dentro. Desde la primera edición despertó la admiración de todos, internitas y especialistas, por su capacidad de penetrar en lo mas íntimo del médico. Se agotaron las ediciones a velocidad de vértigo. Tanto los alumnos como los médicos compraban el libro para estudiarlo, para aprenderlo, para mejorar sus conocimientos, o simplemente para consultarlo.

Como dijimos en nuestro discurso de contestación al ingreso de Zarco en esta Real Academia, Francisco Vega Díaz, gran maestro, clínico y figura inolvidable de la medicina y la cardiología, señaló cuando este libro se publicó que se trataba de un libro atinado, justo, correcto y completo. *Libro atinado* porque en la selección de los conceptos interpretativos el autor había tenido un tino exquisito, *libro justo*, porque se dice en él justamente lo que se debe decir, *libro correcto* porque no hay un solo dato que no reciba la explicación precisa y *libro completo* porque en él se reseña cuanto un cardiólogo debe saber sobre exploración del corazón.

Sin embargo Pedro Zarco nunca se quedó atrás. Otros se hubieran conformado y especulado con ese libro para justificar toda una vida. Siempre tuvo claro que su evolución como clínico y científico, al igual que como persona, no era algo estanco y permaneció alerta para introducirse en los nuevos conceptos, conductas y habi-

lidades. A través de sus libros nos fue situando en la cardiología exacta que se vivía en cada momento. En 1966 publicó, *Las bases moleculares de la cardiología clínica*, y en él nos hablaba de esta nueva forma de entender la cardiología con la misma ilusión que en sus años mozos lo hacía de la cardiología hemodinámica. En él hizo hincapié en el cambio tan profundo que había experimentado la cardiología y que en un futuro inmediato sería básicamente molecular. Aceptando esta capacidad de incorporación de nuevos pensamientos en la mente de Pedro Zarco y deseando que este, acertado, se consolide prontamente, no hay que dejar de olvidar que en ciencia es muy difícil la predicción. A pesar de este hecho en los últimos años nos hablaba de lo que bautizó como *cardiología finita*, expresando con ello su pensamiento que dentro de unos 50-60 años ya no habría nada nuevo por investigar en cardiología.

En su interés por la biología molecular trató de forjar no solo en el cardiólogo sino en el estudiante la idea del cambio. Éstos, impregnados además de la cardiología clínica, por las técnicas convencionales de exploración y las más actuales como la ecocardiografía o la cardiología intervencionistas deben sin solución de continuidad pasar a introducirse en los fundamentos de la biología molecular pues prontamente como pensaba la cardiología moderna estaría profundamente ligada a ella. La cardiología molecular se propone profundizar en los mecanismos más íntimos que intervienen en la génesis de las enfermedades, identificando las moléculas que intervienen en el desarrollo y progresión de las enfermedades cardiovasculares. Con estos avances será posible restituir, reprimir o aumentar la expresión de determinados genes.

Otros libros de Pedro Zarco que merecen ser aunque sean solamente citados son *Las bases Fisiológicas de la Fluidoterapia* (Madrid, 1955), *El fallo mecánico del corazón* (Barcelona, 1975), *Cardiología básica* (Madrid, 1986), *La salud del corazón* (Madrid 1996), *La cardiopatía isquémica* (Madrid, 2000) y otros dos sobre este mismo tema *Cardiopatía isquémica* (Barcelona, 1985) y *Avances en Cardiopatía Isquémica* (Barcelona, 1989) en colaboración con ese gran cardiólogo y persona que es Carlos Sáenz de la Calzada.

De las muchas aportaciones que realizó Zarco a la cardiología caben destacar su contribuciones exploratorias. Sus hallazgos en la auscultación de las lesiones tricúspides fueron sobresalientes. Llamó la atención como en la auscultación en ritmo sinusal de la estenosis tricúspide el soplo presistólico es «*increscendo-in disminuen-*

do» con un intervalo entre el final del soplo y el primer tono. En el caso de la auscultación de la misma lesión en fibrilación auricular llamó la atención que el soplo de llenado es un soplo largo «in disminuyendo» que recuerda mas al soplo de la insuficiencia aórtica que al soplo de llenado mitral. Otra aportación exploratoria suya fue que la aurícula izquierda aneurismática y la aurícula derecha aneurismática se palpan en la pared anterior de tórax.

Cuando la terrible intoxicación por aceite de colza ocurrida a primeros de la década de los 80, Pedro Zarco con su grupo hicieron aportaciones originales relativas a la hipertensión pulmonar que aparecía en el síndrome tóxico. Como consecuencia de sus estudios hemodinámicos en estos pacientes observó como tal hipertensión pulmonar era diferente de la hipertensión pulmonar primaria ya que en el síndrome tóxico era debido a una vasculitis tóxica y no a un a un espasmo de las arterias pulmonares como ocurre en la forma primaria. Otras contribuciones dignas de mención son las relativas a la hipertrofia derecha en la pericarditis constrictiva y a las miocardiopatías.

Su producción científica está representada en los 211 trabajos científicos publicados, 116 en revistas españolas y 56 en revistas extranjeras del máximo prestigio. Tiene 39 artículos de divulgación y mas de una decena de prólogos de libros de relieve. Ha dirigido mas de una veintena de tesis y tesinas y ha presentado un total de 168 comunicaciones científicas en Congresos, 86 en nacionales y 82 en internacionales. Además entre participaciones en mesas redondas y conferencias dictadas suma mas de 260. Algunos de sus trabajos dignos de mención son: *Hemodinámica de la miocardiopatía obstructiva hipertrófica* (1966), *El latido auricular* (1972), *Contractilidad y compliance* (1972), *La anatomía macroscópica del corazón y la geometría de la contracción cardiaca* (1980), *Fisiopatología y clínica de la cardiopatía isquémica* (1981), *Pulmonary hipertensión in the Spanish toxic oil syndrome* (1984), *Valvulopatías tricúspides* (1985), *¿Tiene el ejercicio físico un efecto preventivo en la enfermedad cardiovascular?* (1987), *Radicales libre de oxígeno en la isquemia y reperfusión miocárdica* (1989), *El endotelio vascular como órgano de secreción interna* (1991), *Seguimiento a largo plazo tras angioplastia coronaria* (1995) y *Los médicos y el porvenir de la humanidad* (1983).

En los últimos años publicó un gran numero de artículos de divulgación en la Revista del Colegio de Médico de Madrid algunos de ellos junto a su hija Maria Henar, lo cual le produjo un íntima satisfacción que nos trasmitía con profundo orgullo.

RELEVANCIA DE LOS PUESTOS DE RESPONSABILIDAD QUE OCUPÓ

A lo largo de su vida asumió importantes responsabilidades y en todas descolló ofreciendo lo mejor de lo que llevaba dentro siendo reconocido en todos los casos.

Primero como Profesor Adjunto, luego Titular, de Patología General. Su magisterio se extendió durante muchos años siendo el sueño de no pocos estudiantes poder asistir a sus clases y a su consulta en el Hospital. Su capacidad docente dentro de la Universidad tuvo su recompensa cuando en 1992 obtuvo por oposición la Cátedra de Cardiología de la Universidad Complutense. Sus responsabilidades en la enseñanza de esta, el nivel de sus clases, su forma de transmitir llena de pasión y sus cursos del doctorado fueron realmente ejemplares. Tenía impresionantes dotes para divulgar y la forma de transmitir sus conocimientos ofrecía una enorme credibilidad bien al que le escuchaba o simplemente leía algunas de sus publicaciones.

Como Jefe de Servicio en el Hospital Clínico de San Carlos puso en marcha y desarrolló a partir del año 1964 el Departamento de Exploración Cardiopulmonar del Hospital Clínico de San Carlos que marcó un hito histórico en nuestro Hospital y en la Cardiología nacional. Nadie discutió su mérito al montar esto. Incorporó de forma sistemática la tecnología necesaria para el registro del pulso venoso y arterial, ápex-cardiografía, fonocardiografía, vectocardiografía, cateterismo intracardiaco y angiocardiografía, trabajando con un alto nivel de excelencia e introduciendo en cada momento lo nuevo que iba apareciendo. Creó un grupo de trabajo muy importante, comenzando a trabajar en equipo frente a la cardiología en solitario que hasta ese momento se realizaba en España. En este Departamento se formaron no solo cardiólogos de adultos sino pediatras y muchos médicos que vinieron de fuera y hoy trabajan fuera de nuestro país. Introdujo en España los nuevos conceptos hemodinámicos que él había aprendido en Inglaterra. Esta concepción de la cardiología, realmente nueva en su momento, supuso un importante salto cualitativo en el desarrollo de la especialidad. Fue en su servicio donde la hemodinámica no solo se practicaba sino que sus principios eran difundidos.

Hoy la hemodinámica ha dejado de ser aquella técnica que se utilizaba para estudiar la anatomía y función del corazón con el

objetivo claro de realizar un mas que correcto diagnóstico y dirimir los mejores candidatos a la cirugía, para convertirse en una ciencia nueva que permite no solo lo anterior sino el intervencionismo gracias a sofisticados catéteres y artilugios terapéuticos. Los laboratorios actuales de hemodinámica cuentan con un complejo sistema de recursos humanos, con personal altamente cualificado, tanto de médicos, enfermería y técnicos radiólogos, con un entrenamiento formidable que deben mantener actualizado gracias a los métodos que ellos mismos desarrollan para su formación continuada. Junto a ellos, los recursos materiales necesarios para estas unidades son irrenunciables, tal es el caso de un correcto espacio físico, equipamiento radiológico, sistemas informáticos para la adquisición y archivo de imágenes, entre otros. Pero además de lo anterior es necesario e imprescindible un equipamiento de fisiología cardiaca, así como de reanimación y soporte vital. Entre esta forma de trabajar hoy, por él impulsada, y la heroica de entonces, Pedro Zarco ocupó su vida. El fue, sin duda, el auténtico creador de la escuela de Cardiología de Madrid que nació ese año de 1964.

Otro hecho a destacar fue su capacidad de aglutinar e ilusionar. Introdujo sesiones clínicas totalmente diferentes a las que existían hasta entonces. Frente a las sesiones cerradas tan frecuentes de la época, preconizó y realizó sesiones con otros hospitales de Madrid e incluso de España. El dinamismo que impuso en las sesiones contrastaba claramente con las clásicas sesiones de cátedra imperantes en ese momento. Estas sesiones se convirtieron rápidamente en referentes en el mundo de la cardiología y fueron «clonadas» en otros lugares de nuestro país.

Responsabilidades, quizás no tan trascendentes, pero que nos hablan de su talante de hombre grande entregado desde el éxito a las labores menos gratas o incluso humildes para un hombre de la categoría que tuvo fueron sus responsabilidades en multitud de comisiones ministeriales, en la Organización Mundial de la Salud, en la Asociación Española de Médicos para la Prevención de la Guerra Nuclear, o en una de sus ultimas ilusiones, trabajando con la misma ilusión que un joven estudiante, como simple vocal de médicos jubilados en el Colegio de Médicos de Madrid, a las órdenes de su Presidenta la Profesora Juliana Fariñas, por la que sentía una profunda admiración.

LA FORMACIÓN DE ESCUELA

Pedro Zarco fue capaz de formar una gran escuela, llena de discípulos directos e indirectos, indicándonos esto último que su capacidad de influir científica y profesionalmente desbordó totalmente a su ambiente íntimo de trabajo con el evidentemente se encontraba mas identificado.

Uno de los aspectos que mas se han debatido en las últimas décadas ha sido el relativo al concepto de escuelas, a su entrada en crisis o a su paulatina desaparición, al menos en el concepto histórico que de ellas tenemos. Muy ligadas al concepto de maestro las clásicas escuelas han ido dejando paso al concepto de equipos de trabajo. Casi de forma imperceptible hemos pasado de una medicina de escuelas a una sola medicina basada en la constatación científica, en la tan de moda actualmente Medicina Basada en la Evidencia que no debería quedar exenta de críticas. Hoy sin duda ningún pacientes es tratado según una escuela determinada, ya que el diagnóstico y tratamiento es similar en todos los lugares gracias a guías o protocolos de actuación clínica universalmente consensuados y aceptados. Consecuencia de lo anterior ha sido la caída del prestigio individual del médico, a favor del prestigio de la Medicina como ciencia, aunque paradójicamente cuando falla ésta el destinatario de las responsabilidades es el médico. Esta realidad histórica a la que hemos asistido en su transformación ha hecho que el concepto de maestro y discípulo quiera ser modificado no pocas veces intencionadamente. Se habla, como digo, no pocas veces con carácter destructivo, ante todo por aquellos que llevan mas resentimiento que agradecimiento, de que existe una crisis de maestros cuando en realidad lo que existe es una crisis de discípulos porque nadie quiere ser discípulo. Hoy al maestro es preferible llamarle jefe bien en tono despectivo o respetuoso, pero en general cargado de intención administrativa, apartándose del reconocimiento que su responsabilidad y liderazgo le confiere. Hoy todavía sigue sin digerirse por algunos el fantástico banquete de democracia que tuvimos la suerte de disfrutar hace 25 años y que de alguna forma nos sumió en una determinada arrogancia y prepotencia en cuanto a que todos somos iguales.

Esta crisis de discípulos como decimos está dejando una honda huella que tardará generaciones en superarse. Sin embargo se atisban ya grupos activos que reivindican desde su posición de discí-

pulos la importancia y valor del reconocimiento de la figura del maestro, que por otra parte no es sinónimo de aquél quien ostenta un cargo académico o asistencial determinado. Maestro es aquel que es capaz de transmitir algo más que simplemente conocimientos. Es aquel capaz de transmitir un hacer y pensar impregnado de un estilo peculiar a un conjunto de personas. Estas personas con él, componen ese binomio indisoluble que es maestro-discípulo o discípulo-maestro. Esa capacidad de ser maestro y discípulo sólo la tiene un maestro. Esa capacidad de ser discípulo y maestro sólo la tiene un discípulo. La acertada frase de don Pedro Laín, *Mal maestro, el que llegada una situación en su vida no sabe ser discípulo de su discípulo. Mal discípulo, el que llegada una situación en su vida no sabe ser maestro de su maestro* debería ser recordada de continuo por todos aquellos que profesamos nuestra admiración por los maestros y aceptamos ser sus discípulos como compromiso vital.

Pues bien, en este contexto de crisis de discípulos realizó Pedro Zarco la mitad de su vida académica y profesional. Pedro Zarco ha sido un maestro de la medicina, un maestro de la cardiología que ha dejado una profunda huella en la medicina española. Pedro Zarco ha hecho una importante escuela como lo prueba la multitud de discípulos que presumen de serlos. Entre otros muchos ahí están Luis Martínez Elbal, Arturo García Espinosa, Ester de Marco Guilarte, Arturo Cortina Llosa, Manuel Gómez Recio, Camino Bañuelos, Manuel Remesal, José Luis Rodrigo López, Andrés Iñiguez, Fernando Alfonso, Antonio Fernández Ortiz y algunos pediatras como Manuel Quero. Importantes colaboradores de su obra o discípulos indirectos son también Carlos Macaya, Javier Goicolea, Rosana Hernández-Antolín y Javier Segovia. Otros cardiólogos que no fueron discípulos directos, pero que reconocen la gran influencia de Zarco en la elección de la cardiología como especialidad, fueron Jerónimo Farré, Alfonso Medina o J. Suárez de Lezo. Aunque no fue discípulo directo de él, sino de su maestro D. José Casas, pero que trabajó muchos años a su lado recibiendo sus enseñanzas estaba Cristóbal Zarco, Tobi para todos. Médico excepcional, que machacado por su enfermedad dio ejemplo a todos, como su padre y su hermano, trabajando hasta el último momento por sus enfermos.

EL RECONOCIMIENTO DE LA COMUNIDAD CIENTÍFICA Y DE LA SOCIEDAD EN GENERAL

Para la profesión médica Pedro Zarco fue una referencia difícil de sustituir. Ante cualquier duda la consulta con él era obligada tanto para el médico como para el enfermo. ¿Que piensa Zarco?, ¿le ha visto Zarco?, ¿y Zarco que opina?, ¿ha pensado usted en ir a Zarco?, ¿por qué no va a Zarco? Zarco sin duda era un punto de equilibrio, cuando no de solución, de problemas en su práctica profesional de la misma forma que lo fue en el mundo científico.

De una gran discreción nunca buscó honores ni distinciones y sin embargo recibió multitud de premios y honores. Fue Fellow in Cardiovascular Research (1981), Fellow de la Royal Society of Medicine (1992), Miembro correspondiente de la British Cardiac Society (1976), Miembro de la New York Academy of Sciences (1988), Membership of the American Association for the Advancement of Science (1993), Miembro del Grupo Consultivo de Expertos de la OMS de Enfermedades Cardiovasculares desde 1983 a 1998. Miembro Honorario de la Facultad de Medicina de Santiago de Chile (1972), Miembro Correspondiente Extranjero de la Sociedad Cubana de Medicina Interna (1985), Miembro Honorario de la Sociedad Venezolana de Cardiología (1986), Profesor Honorario Distinguido de la Universidad de Santo Domingo (1990), Profesor Honorario de la Facultad de Medicina de la Universidad de Valparaíso (1993). La prestigiosa Editorial Edimsa le nombró Médico del Año en 1990. Premio de la Sociedad Española de Cardiología en 1990, Primer Premio Científico del Hospital Universitario de San Carlos (1990), Premio Searle 1991 de la Sociedad Española de Cardiología, Premio Científico del Hospital Universitario San Carlos de Madrid nuevamente en 1993 y 1997. Obtuvo una importante beca del Comité Conjunto Hispano-Norteamericano con la Universidad de Alabama para estudiar la Trombolisis en el infarto de miocardio agudo, motivo que fue de la tesis doctoral de su hijo José Zarco Montejo.

Perteneció al Comité Científico de diversas revistas, entre ellas, Revista Española de Cardiología, Revista Latina de Cardiología, Revista Clínica Española, Revista de Sanidad e Higiene Pública, Cardioscience y Confluencias.

ZARCO COMO HOMBRE

En mi discurso de contestación a su ingreso en esta Real Academia hice un detallado perfil de mi visión de Pedro Zarco como persona. No quisiera pues repetirme en cuanto dije pero si resaltar algunos aspectos de su personalidad que deben estar presente en nuestros pensamientos en estos momentos.

Desconocido para la inmensa mayoría de la gente por su carácter reservado cuando se le conocía mas profundamente se detectaban cualidades de gran relieve. De gran atractivo personal, rebosaba una gran sensibilidad producto de sus orígenes culturales y críticos, y que marcaron claramente su vida como hombre, haciéndole culto y comprometido con las causas que le llegaban al corazón. Tenia una gran inteligencia, era profundamente autocrítico, tímido, valiente, ingenuo, sin malicia y con un gran sentido del humor. Comprometido consigo mismo fue sufriendo una importante transformación a lo largo de su vida, pero como él mismo decía «se puede variar la ideología sin cambiar un ápice las convicciones mas profundas ni la línea de conducta». Yo diría que entre la construcción intelectual de sus ideales y la desilusión pasó toda su vida.

Ese carácter complejo en una España de recovecos le llevó a cierta desconfianza institucional en ocasiones, aunque no siempre tuvo razón cosa que como hombre inteligente reconocía continuamente. Sin embargo Pedro Zarco siguió siendo el mismo: un *idealista independiente* y un *inconformista respetuoso*. Un hombre en toda regla que había sufrido una profunda mutación en los últimos años. Tomándose quizás la vida de otra manera. Profundizó en el placer de vivir y el placer de aprender -como decía- frente al concepto de «lucha por la vida», aunque nunca abandonó lo que yo he denominado la *constante tensión del compromiso* pero *vivida* de forma más placentera. En los últimos tiempos vivía un momento trascendente consigo mismo, donde la paz y la reconciliación marcaban su día a día. En realidad era un placer descubrir a un Pedro Zarca nuevo cada día.

ZARCO EN LA ACADEMIA

Quisiera terminar hablando de lo que supuso para Pedro Zarco esta Real Academia. Quizás muy pocos lo sepan pero fue para él un

reencuentro consigo mismo. El hombre atípico, que parecía frío y al que nada le importaba era un hombre sensible con gran admiración por las Instituciones. Otra cosa es que, por su carácter rebelde, no estuviera de acuerdo con el funcionamiento de algunas de ellas, pero su respeto a ellas era de gran magnitud y ejemplo para muchos. Con respecto a nuestra Academia comentaba, por ejemplo, en sus primeros meses en ella, no comprender como era posible que aún nuestros estatutos básicos estuvieran firmados por el anterior Jefe del Estado cuando hacía mas de 25 años que había fallecido, como tampoco entendía como tras cada conferencia los académicos se deshacían en felicitaciones, en ocasiones de forma desmesurada. Sin embargo, como hombre inteligente y bueno, a pesar de su rebeldía, pasados unos meses dejó de hablar de ello, aceptando como bueno todo cuanto se realizaba en esta Academia.

Pedro Zarco llegó a esta Real Academia con la misma ilusión que un niño va al colegio. Como hombre de una gran visión rápidamente se dio cuenta de lo que iba a significar en su vida, no para presumir de ser académico, sino para trabajar por ella. Acudía puntualmente todos los martes después de acudir al Colegio de Médicos de Madrid. Con auténtica ilusión, entre martes y martes me comentaba en el Hospital la sesión siguiente, los temas que se iban a hablar y la categoría de los conferenciantes. Deseaba ardientemente que llegaran el martes siguiente, manifestando su disfrute en la Academia, tanto en el salón amarillo, departiendo con los Académicos, como en las sesiones e intervenía en ellas sólo cuando tenía algo que aportar o preguntar, haciendo siempre con gran agudeza, tino e inteligencia.

En la Academia descubrió algo que le sorprendió vivamente. Y era, cuanto sabían los demás y la categoría de los Académicos. Aquí se nos muestra Zarco en todo su esplendor de maestro sabiendo ser discípulo. La grandeza del maestro se muestra ante todo cuando este asume y no esconde que los demás saben mas uno mismo. Comprometido con el magisterio se nos muestra con un rasgo que nos llena de admiración y que solo está reservado a los grandes: a pesar de su enorme categoría busca al maestro en cualquiera. Cualquiera que tenga algo que enseñarle y el no sepa. Quiere saberlo todo, se maravilla de lo que saben los demás y no quiere desaprovechar la ocasión que le ha brindado el destino. La admiración que le producían los Académicos era realmente sorprendente. Le dejaba perplejo sus conocimientos y comentaba que nunca pensó que el nivel que había en la Academia fuera de tal magnitud.

Pedro Zarco, y lo he vivido de cerca, se nos manifiesta en la Academia con una nueva dimensión. Muestra su cara adelantada, inquieta, valiente y con un decidido deseo de vivir y construir. Su compromiso con la ciencia adquiere un carácter universal manifestándose preocupado por cuanto acontece en el mundo genérico de la ciencia. Le interesa la física, la química, la biología molecular, la genética, la paleoantropología, etc. Pero también se mete mas profundamente en sus orígenes profundizando en una visión humanista de gran calado. Creo sinceramente que Pedro Zarco estaba preparando un gran salto en su vida, para presentarse ante nosotros en una nueva dimensión intelectual que sin duda nos hubiera sorprendido.

Poco tiempo ha tenido a pesar de todo Pedro Zarco para disfrutar en esta Academia. Pero sin duda todos nosotros hemos disfrutados de sus conferencias, una la de ingreso *Panorama de la cardiología en el cambio de milenio*, discurso ejemplar cargado de sugerencias y conocimientos, y otra titulada *Arquitectura del corazón e insuficiencia cardiaca*. Dos conferencias profundas, cargadas de interrogantes y reflexiones, que no eran sino tan sólo una muestra de lo que sus aportaciones hubieran significado para esta Academia.

En nombre de esta Real Academia y en mío propio manifiesto nuestro profundo pesar por la pérdida de tan insigne académico. Su presencia en ella la hizo mas grande y hoy le recordamos como uno de los nuestros que siempre estará entre nosotros. En nombre de esta Real Academia y en el mío propio quiero expresar mis sentimientos mas profundos de pesar a Chon, a sus hijos José, Pedro, Cristóbal y María Henar, a toda su familia, así como a sus compañeros, discípulos y amigos.

Excmo. Sr. Presidente, Excmos. Sres. Académicos, señoras y señores, termino haciendo una súplica a cuantos hoy nos congregamos aquí para dar cumplimiento a esta sesión necrológica. La cortesía académica y la buena educación nos llevan a aplaudir al finalizar su intervención al académico que realiza el discurso de precepto en memoria del académico fallecido. Yo os pido que hoy no se produzca este aplauso, sino que por el contrario nos manifestemos con nuestro silencio, silencio que cada uno llenaremos con tantos y profundos sentimientos que en todos nosotros despertó la figura del Excmo.Sr.Pedro Zarco Gutiérrez.

He dicho.

INTERVENCIONES

Prof. Suárez Fernández

Decía Pedro Zarco que la amistad «es un patrimonio cultural del que debemos de estar muy orgullosos los españoles y que merece la pena cultivar». Sin embargo, no es tarea fácil el abordarla con éxito y preservarla incólume a través del tiempo y las circunstancias vitales. En esta faceta Pedro no cabe duda que fue un gran campeón. Los que hemos asistido y estamos asistiendo, a distintos actos y jornadas necrológicas en su honor y recuerdo, somos testigos de una intensa y extensa expresión afectiva entre compañeros y amigos.

Pedro Zarco hacía gala, con frecuencia, de estar en posesión de «un sentido deportivo de la vida» que le inculcó el Profesor Casas, su admirado maestro, pero, al tiempo, estaba especialmente dotado para el cultivo permanente de la amistad como expresión de libertad, concebida como la más noble y generosa manifestación del ser humano.

Trabajador incansable y deportista ejerciente, manifestaba con frecuencia un sentido epicúreo de la vida. Conocí a Pedro Zarco hace 28 años, cuando llegué a Madrid procedente de la Universidad Central de Barcelona para incorporarme en la Universidad Complutense. Quiso el destino que en mi familia se necesitase la atención periódica de un cardiólogo y, con motivo de mi traslado a Madrid, pedí consejo en Barcelona para elegir un especialista. Se me dijo, sin dudar, el nombre de Pedro Zarco.

Desde el comienzo de nuestra relación me impresionó su generosidad y profunda preparación científica. En su casa de la calle Guturbay tenía archivadas en cuidadas estanterías las mejores revistas médicas de nivel internacional, que le mantenían al día de los avances científicos y cuya suscripción mantuvo siempre, con preferencia a cualquier otro método de información científica.

Recuerdo una ocasión en que se agudizó un problema cardiovascular a nivel familiar y me dijo «toma mi teléfono móvil y mi teléfono de la sierra y no dudes en llamarme a cualquier hora que me necesites». Este hecho refleja bien el talante generoso de su persona como médico y amigo. Como amigo y hombre culto y amante de la cultura, no es aventurado imaginarle como lector de Hamlet y seguidor de aquel consejo de Polonio a Laertes: «Los amigos que escojas y cuya adopción hayas puesto a prueba, sujétalos a tu alma con garfios de acero».

Nunca tuve la sensación de adentrarme en sus vicisitudes personales y de trasfondo político. No era necesario. Una vez más, el sentido pésame a su esposa, hijos y familiares.

Prof. Portera Sánchez

Para respetar la brevedad, me he ajustado a los conceptos clave que representan mis sentimientos de modo más conciso que las infinitas palabras que incesantemente pcupan mi mente cuando pienso en Pedro Zarco.

¿Cómo ejerció su profesión?

Para Pedro, ser excelente cardiólogo fue fácil. Pero lo que lo distinguió no fue cuánto sabía sino *cómo* usaba lo que sabía y cómo era su inigualable estilo profesional. Durante su acto médico siempre compartía los síntomas con el enfermo y, en ese momento, ese caso concreto no estaba en las páginas de los libros de Cardiología. Pedro y el enfermo vivían juntos la enfermedad.

¿Cómo vivió sus últimos años?

En sus años de jubilado, como muchos otros jubilados, en su ecenografía mental, imaginaba, disfrutaba y provocaba variadas formas de dejar vivir como profesional, puesto que de eso se trata la jubilación. Sólo mantenía las actividades que eran de su propiedad, la cultura, el ciclismo y la más disfrutada y deseada de todas: vivir en las mentes, los cuerpos y gestos de sushijos Pedro, José, María Henar y Cristóbal.

¿Cómo dejó vivir?

Siempre, con su característica y envidiable ironía, despreció a la muerte como una homicida impotente y envidiosa de la vida por ser incapaz de crear y de ser inmortal como la vida. Pedro nunca le concedió la mínima importancia. Siempre concibió la existencia de

la muerte como ridícula y totalmente innecesaria aunque malignamente utilizada por muchos como un brutal instrumento para interrumpir el maravilloso diseño de la vida disfrutado y defendido por todos los seres vivos. Pedro fue únicamente vida hasta que dejó de ser él. Fue entonces cuando, al dejar de vivir, pasó a ser recuerdo o vida en otros. Nunca otra cosa. Pedro sólo ha sido vida y, ya vida, nada o recuerdo. Nunca muerte. Ésta, como vil asesina, penetró en él durante el sueño sin permitirle la más mínima defensa.

La muerte, vengativa y alevosa, impidió que nuestro deseo, repetidamente acordado entre él y yo, se cumpliera: **dejar de vivir** juntos en el mismo instante. Pírrica victoria de la muerte estúpida porque... ¡mucho de mí se fue con él... y... mucho de él, enriqueciéndome, vive aún en mí!

(Párrafos leídos en la reunión-recuerdo de Pedro Zarco en el Hospital Clínico el día 4 de junio de 2003).

* * *

Integrados, nos encontramos con frecuencia por la mañana o por la noche. Paseando por las aceras o esquinas, conduciendo juntos o en sesiones clínicas. Ahora mismo, en este instante, en nuestra Real Academia seguimos ocupando nuestros asientos continuos. Hace quince días te encontré, Pedro, mientras yo leía *El Quijote*, en su última página...

«Yace aquí el Hidalgo fuerte
que a tanto extremo llegó
de valiente, que se advierte
que la muerte no triunfó
de su vida con la muerte».

Prof. Alonso Fernández

Mi encuentro con el añorado compañero y amigo Pedro Zarco fue tan tardío como profundo (tan tardío para mi infortunio y tan profundo para mi suerte). Ocurrió con motivo de recibir su visita para presentarme como candidato a la vacante de cardiología en la R.A.N.M.

¿Por qué tan tardío? No lo sé con certeza, aunque tengo mis impresiones explicativas sobre ello, que no son del caso tratar ahora.

Sí sé, en cambio, por qué para mí el encuentro fue tan profundo. Me impactaron a la sazón varias cualidades de su carácter, sobre todo la franqueza (sin dobleces), la ingenuidad y la sencillez, potenciadas con un singular pensamiento creativo y un notable sentido del humor. Su sentido del humor lo llevaba inscrito en su perenne sonrisa. Su pensamiento creativo partía de plantearse los problemas desde un costado original, distinto a su lado habitual, y se concretaba aportando soluciones laterales, no coincidentes con el cauce común.

Después, Pedro Zarco, en reiteradas ocasiones, me ha dado pruebas personales y científicas de poseer un talante de amigo generoso, mediante escritos suyos, comentando alguna de mis publicaciones, y a través de su intervención en la presentación de un libro mío, así como en un sinfín de oportunidades.

Con el fallecimiento de Pedro Zarco, lo digo desde el hondón de mi espíritu, siento haber perdido a una gran persona, un camarada sincero hasta el «non plus ultra», y un espléndido amigo que lucía el altruismo como emblema de su comportamiento.

Por todo ello, resulta propio que su marcha me haya dejado un desolador vacío, hasta el punto de haberseme vuelto muy dolorosa la reincorporación a las habituales actividades de esta Academia, al no contar ya con el estímulo de su compañía y de su palabra.

Este luctuoso vacío tenebroso y nihilista que percibo en torno mío, que debería estar ocupado por la presencia juvenil del sonriente profesor y entrañable amigo, ofrece tal vez la circunstancia ventajosa de constituir la óptica adecuada para compartir el abisal dolor de sus familiares y acompañarle con mi solidaridad y mi cariñosa vinculación personal, hoy y siempre.

Prof. Durán Sacristán

Otra vez más en este ir y venir de los miembros de esta Academia que constituyen el testimonio de una Comunidad que está viva y abre sus puertas a unos para que entren y la enriquezcan o que cierra sus puertas a los que han dejado aquí su mensaje y su presencia.

Uno de los últimos en marcharse ha sido Pedro Zarco, llevándose la sonrisa y la cara de complacencia que le dejó la satisfacción de su

comportamiento y la sensación de total aceptación por parte de todos nosotros y la evidencia de que todos le queríamos y le admirábamos. A veces tiene que ser la desgracia o la convulsión la que nos haga comprender lo que los otros representaban en nuestra vida.

La vida de Zarco tuvo gran paralelismo con la mía porque también se pasó en el trabajo, en la dedicación y en el esfuerzo siempre en la órbita de la vida Académica y en las circunstancias generacionales que nos hicieron movernos en un mundo utópico de ilusiones y de a veces sórdidas realidades.

Por aquellos tiempos gustábamos mucho de comparar vivencias y resultados vitales circunstancias que nos enriquecían y estimulaban. Curiosamente por las rendijas de este entramado se iban metiendo los gérmenes de la amistad, que después en la vida fructificaron en casi todas las cosas hasta hacernos exclamar con frecuencia. ¡Éste es más amigo mío de lo que yo pensaba!

Esto me ocurrió a mí con Zarco que llegó a ser un hombre muy querido y admirado por mí y por la gente de mi entorno.

En muchas ocasiones en mi vida Pedro Zarco ha sido un hombre fundamental y decisivo. La primera ocasión de grave responsabilidad en mi comportamiento tuvo lugar en Alabama a cuyo Hospital una hija mía fue llevada y acompañada por Zarco para recibir una operación complicada en una serie de actos que protagonizó el Prof. Pacífico del que no se separó ni un solo momento. Todo resultó como él había previsto. Esto era habitual en Zarco: acompañar a sus pacientes donde fuera necesario o simplemente conveniente. Un año después se repitió lo mismo con un cuñado, también en Alabama, donde la presencia, la sabiduría y la serenidad de Pedro Zarco jugaron un importante papel que se extendió largo tiempo en el cuidado del paciente.

En otras ocasiones estuve con Pedro Zarco en Inglaterra, aunque por aquellos tiempos la situación que convivimos tenía más motivos científicos y técnicos que concretamente asistenciales. Siempre en estos casos Zarco representaba la seguridad, el sosiego, la compañía firme y segura; en realidad, representaba la fuerza de la amistad y de la sinceridad.

El resto de cosas importantes ya han sido enmarcadas en la magnífica lección de Díaz Rubio, cuya intervención ha demostrado que Manolo Díaz Rubio conocía muy bien a Zarco y vibraban en sintonías análogas.

Tras haberse alejado Pedro Zarco por designios del destino, es

evidente que el ejemplo de su vida se ha agrandado muchísimo y cada vez somos más los que lloramos su ausencia tras haber considerado con fundamento y sosiego que este gigante de la cardiología era mucho más que un médico especialista en cardiología que gustaba de cuidar su cuerpo y su salud siendo ejemplo de deportividad y de constancia.

A sus hijos, médicos eminentes, y a su mujer con toda admiración y cariño le ofrezco todo lo que pueda ayudarla a continuar la obra de un gran médico, un gran profesor y un gran amigo que ha desaparecido porque no le cabían en el pecho los mensajes que siempre acumuló para ayudar a vivir a los demás.

Prof. Reinoso Suárez

Aunque no tuve ocasión de conocer al Prof. Zarco hasta que se planteó su incorporación a nuestra Academia, su trato amable y educado, su cordial sonrisa y su deseo de colaboración y trabajo me captaron desde el primer momento. Su interés por el sistema nervioso hizo que tuviésemos algunas conversaciones en las que pude apreciar la real profundidad de su pensamiento, y la actualidad de su información en temas punteros de Neurociencia.

Este interés por la Neurociencia y por los temas de Sueño y Memoria llevó al Prof. Zarco a hacerme unas preguntas el día de mi conferencia en esta Real Academia sobre ese tema. En ella se interesó por el sueño, mejor por el poco sueño, de personajes como Napoleón y Leonardo, por los temas de psicosis y sueño y comentó un artículo que el grupo de A. Hobson había publicado en el último número de *Nature Review Neuroscience*. Fue un cambio de impresiones amable, interesante y constructivo.

Pero, desgraciadamente, fue también la última intervención de nuestro amigo Pedro Zarco en esta corporación. Aquella misma noche inició ese sueño eterno al que todos estamos abocados. Mi impresión al tener noticias de su fallecimiento fue enorme. Había tenido la última conversación científica con un Académico que estaría ya gozando de la presencia del Altísimo. Naturalmente una oración por el feliz descanso, para siempre, de Pedro Zarco brotó de mi corazón, ese corazón que a tantos había arreglado el Dr. Zarco y que aquella noche le había fallado a él de forma irremediable.

Estas circunstancias han creado en mí a manera de un cierto

compromiso espiritual con Pedro Zarco. Por eso siento hoy, aún más, no estar en los actos que se celebran en la Real Academia Nacional de Medicina en su memoria. Estad seguros que hoy pediré, una vez más, porque Pedro Zarco descanse siempre en paz.

PALABRAS FINALES DEL PRESIDENTE

No sin una profunda emoción me dirijo a ustedes, señoras y señores, mis queridos colegas compañeros de Academia. Conocí al Prof. Zarco hace muchos años; él era profesor adjunto en la Cátedra de Patología General y yo lo era en la de Patología Médica. Hombre sencillo, excelente, elegante, magnífico, gran amigo, con una virtud incuestionable, decía siempre su opinión con claridad y gran respeto. Le conocí en los años en que era Internista en la Cátedra del Prof. Casas. Ya desde el principio él tenía auténtica vocación por la cardiología, y así fue como llegó a ser un cardiólogo ilustre, reconocido en todo el mundo occidental, incluso en muchos sitios de Norteamérica.

En una ocasión, en Birmingham con el Prof. Prokov, que era catedrático de Cardiología entonces de aquella magnífica universidad; cuando el primer día le saludé, enseguida me preguntó por el Prof. Zarco. Pude comprobar en las conversaciones con el Prof. Prokov su profunda admiración por nuestro gran cardiólogo. Muy posteriormente coincidimos muchas veces, prácticamente en todas las reuniones, porque él tenía la costumbre de no faltar nunca a éstas. Reuniones en el Departamento de Medicina Interna que muchos de los que me escuchan recordarán perfectamente. Aquellas reuniones en una de las aulitas pequeñas de la planta 6.^a del ala norte, en donde Pedro Zarco, con espontaneidad, no ocultaba jamás sus opiniones referentes a todas las cosas. Allí, en el Departamento, se comportaba como lo que era, un hombre sincero, gran conocedor de la Patología General y de la Fisiopatología, mucho antes de hacerse cardiólogo; por eso fue un gran cardiólogo, porque era un maestro de la Fisiopatología General. Era asiduo a aquellas reuniones que yo recuerdo muchas veces; teníamos nuestras discusiones, pero siempre imperaba el mutuo respeto, el afecto y el entrañable cariño que nos teníamos, eso es así. Hombre elegante en su vestir, hombre elegante en su comportamiento, muy fino de estructura mental en relación con los demás.

Ha sido una gran pérdida para la Medicina, para la Cardiología, para la Real Academia Nacional de Medicina, para la Universidad, para todos los sitios en donde él enseñó tanto, porque no es que fuera buen cardiólogo, sino que enseñaba la cardiología de una manera muy peculiar, muy exacta, como se debe enseñar, huyendo de dogmatismos y huyendo de muchas cuestiones que no hacían falta para nada y yendo a la profundidad de los conocimientos que hacen que los discípulos lleguen a ser maestros. Con profunda emoción y afecto, familia de Pedro Zarco, un gran amigo nuestro, nuestro sentido pesar.

Ahora quiero leerles a Uds. una carta que he recibido esta misma tarde de D.^a Esperanza Aguirre Gil de Biedma, que dice así:

«Dr. Amador Schüller, Presidente de la Real Academia Nacional de Medicina, fechada el 13 de octubre de 2003. Querido Presidente, ante la imposibilidad de asistir a la Sesión Necrológica que esa Real Academia celebrará en memoria del Excmo. Sr. D. Pedro Zarco Gutiérrez, quiero hacerlos llegar mi más completa adhesión. Su rica personalidad, su obra científica, su labor pedagógica y su dilatado ejercicio de la Medicina, hicieron de Pedro Zarco un modelo de ciudadano, de profesor y de médico; todos los que le conocimos y admiramos guardaremos de él un recuerdo indeleble y honraremos siempre su memoria. Con el ruego de que haga llegar mis palabras a todos los Académicos y también a los familiares y amigos del Dr. Zarco, te envío un fuerte abrazo. Esperanza Aguirre».

Ya cumplido esta misión a través de esta carta, quiero finalizar mi adhesión firme a todas cuantas cuestiones han indicado mis colegas, mis queridos amigos Académicos, y muy especialmente, querido Prof. Díaz-Rubio, a la magnífica la locución necrológica a la que me sumo completamente, ¡qué bien conocías a Pedro Zarco!, un abrazo muy fuerte para ti también.

Se levanta la sesión.

