

INSTITUTO DE ESPAÑA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

**BASES MOLECULARES
DE LAS ENFERMEDADES
METABÓLICAS.
PREVENCIÓN**

DISCURSO
para la recepción pública del Académico Electo
EXCMO. SR. D. FEDERICO MAYOR ZARAGOZA
leído el día 12 de Noviembre de 2002

y contestación del Académico Numerario
EXCMO. SR. D. ÁNGEL SANTOS RUIZ



MADRID, 2002

INSTITUTO DE ESPAÑA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE MEDICINA

**BASES MOLECULARES
DE LAS ENFERMEDADES
METABÓLICAS.
PREVENCIÓN**

1. INTRODUCCIÓN 1

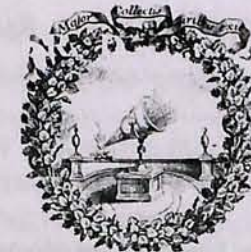
2. EL TERCER DE LA VIDA 4

3. DISCURSO 4

4. METABOLISMO 23

DISCURSO
para la recepción pública del Académico Electo
EXCMO. SR. D. FEDERICO MAYOR ZARAGOZA
leído el día 12 de Noviembre de 2002

y contestación del Académico Numerario
EXCMO. SR. D. ÁNGEL SANTOS RUIZ



MADRID, 2002

DEPARTAMENTO DE NEUMOLOGÍA
 INSTITUTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 DE LAS UNIVERSIDADES
 METABÓLICAS
 PREVENCIÓN

Depósito Legal: M. 47.080-2002

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

* INTRODUCCIÓN 7
 * EL LENGUAJE DE LA VIDA 9
 * FISIOPATOLOGÍA MOLECULAR 11
 * METABOLOPATÍAS CONGÉNITAS Y ADQUIRIDAS .. 23

INDICE

	<u>Págs.</u>
1. INTRODUCCIÓN	7
2. EL LENGUAJE DE LA VIDA	9
• FORMAS SIN FIN	9
• DIVERSIDAD EVOLUTIVA. UNICIDAD	9
• UNIDAD ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL (ATP, CICLOS METABÓLI- COS, ETC.)	9
• GENES / PROTEÍNAS / ACTIVIDADES	9
3. FISIOPATOLOGÍA MOLECULAR	11
• «RECONOCIMIENTO» A ESCALA MOLECULAR Y CELULAR.....	11
- Receptores	11
- Activadores / inhibidores	11
• PROTEÍNOPATÍAS / RECEPTORPATÍAS.....	13
- Desde la anemia falciforme al funcionamiento de la βARK.....	18
4. METABOLOPATÍAS CONGÉNITAS Y ADQUIRIDAS ..	23
- Postnatal (suplencia materna).....	25
- Prenatal	26
• DESARROLLO PRE Y POST-NATAL DEL CEREBRO	26
• CONGÉNITAS: LAS ENFERMEDADES DESCUBIERTAS POR ARCHI- BOLD GARROD. FENILCETONURIA	31
• DIAGNÓSTICO PRECOZ Y PREVENCIÓN	38

	<u>Págs.</u>
• TRATAMIENTO:	
- Por el producto	40
- Por el origen (terapia génica)	40
• METABOLOPATÍAS ADQUIRIDAS	46
5. PROYECTOS DE AYER, REALIDADES DE HOY	48
• PERSPECTIVAS: MEDICINA PREDICTIVA Y FARMACOGENÉTICA	48
• ASPECTOS ÉTICOS	49
DISCURSO DE CONTESTACIÓN POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO EXCMO. SR. D. ÁNGEL SANTOS RUIZ	53

1. INTRODUCCIÓN

Quiero expresar en primer lugar mi agradecimiento a los miembros de esta Real Academia Nacional de Medicina por haberme elegido para formar parte de ella y por asistir hoy al solemne acto de mi ingreso.

Les expreso mi especial reconocimiento porque, como farmacéutico y bioquímico, como investigador y profesor, he procurado siempre que el conocimiento se aplicara a favor de la dignidad humana, para paliar el sufrimiento, para evitarlo si es posible. El Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad Infantil, propuesto en 1969 inicialmente, la creación de las escuelas de bioquímica perinatal y patología molecular y las investigaciones que he desarrollado en el campo del metabolismo cerebral, así lo acreditan. No por el alcance que hayan tenido, que no me corresponde a mi juzgarlo, pero sí por los esfuerzos desplegados y por las razones que los motivan.

En este momento tan emotivo para mí, permítanme que rinda homenaje a mis padres, que no tuvieron acceso a la escuela pero fueron maestros —porque aprendieron en el discurrir cotidiano las lecciones que no habían recibido— en el arte de vivir. Maestros en el trabajo, en la escucha, en como deben defenderse los propios argumentos. No hay más pedagogía que la del ejemplo y del amor. Uno a este homenaje al Profesor Ángel Santos Ruiz, que tuvo la clarividencia de incorporar la bioquímica a los estudios de Farmacia y promover de este modo, por la calidad de su docencia, por su sobresaliente y pionera apreciación del valor y uso del conocimiento, el esclarecimiento de los fundamentos fisiopatológicos y

terapéuticos. Toda mi trayectoria académica y científica ha ido de su mano. Hoy –¡que maravilla!– es D. Ángel quien contesta este discurso, a los 90 años cumplidos. Gracias, de todo corazón. Gracias indelebles, intransitorias, Prof. Santos Ruiz, en mi nombre y en nombre de todos los míos. De mi familia, empezando por mi mujer, compañera de estudios, compañera de vida que me animó de forma particular en mis iniciativas preventivas. En nombre de mis hijos, yerno, nueras, nietas, nietos. Una, Andrea, la mayor, ya estudia tercer año de Medicina. Con brillantez, con dedicación, con devoción casi, como no puede ser de otro modo cuando se ha decidido seguir una de las sendas profesionales más profundamente humanas y humanitarias.

Mi gratitud, también, en nombre de mis colaboradores de tantos años –Magdalena Ugarte, muy especialmente, por el tema que hoy desarrollaré aquí– que han mejorado en tantas dimensiones a quien les habla. Lo digo no como un cumplido a ellos, sino como la expresión de una gran satisfacción personal. Mi hijo Federico ha seguido el camino inigualable de la docencia y de la investigación. Se ha acreditado como un científico de gran rigor e inspiración.

Ya ven, Sr. Presidente, Sras. y Sres. Académicos, Sras. y Sres., queridos amigos, cuántas sensaciones y pensamientos en el momento de escribir, en la ocasión de pronunciar, estas palabras. Y estímulo –a pesar de las llamadas de mi mujer a la «desaceleración»– para no cesar. Como dijo el Papa Juan Pablo II en su inolvidable discurso en la UNESCO, en 1981: «No ceséis. No ceséis nunca». Como me recordaba mi madre y he repetido tantas veces: «Ya descansaremos cuando nos muramos». Es tiempo de acción. Son tiempos turbulentos en los que es más necesaria y apremiante la solidaridad, la ayuda a los menos favorecidos, la independencia de criterio, la defensa de unos valores y principios, más cruciales y acuciantes cuanto más oscura es la noche.

Termino esta parte de mi discurso con la evocación del Prof. Rafael Cadórniga, cuyo sillón paso a ocupar. Fue un gran profesor, un gran especialista galénico, un gran Director de la Academia de Farmacia... pero, sobre todo, un hombre bueno, preocupado hasta el último detalle, responsable... Recuerdo vívidamente cuando decidió –no es nunca tarea fácil para los gallegos– venir a Madrid, donde desarrolló una extraordinaria etapa de su densa trayectoria científica, académica y humana.

Fué la suya una muerte madrugadora y especialmente inoportuna. Había dado mucho a su país natal, a España, a la Farmacia, a las ciencias de la salud. Su ejemplo permanece.

2. EL LENGUAJE DE LA VIDA

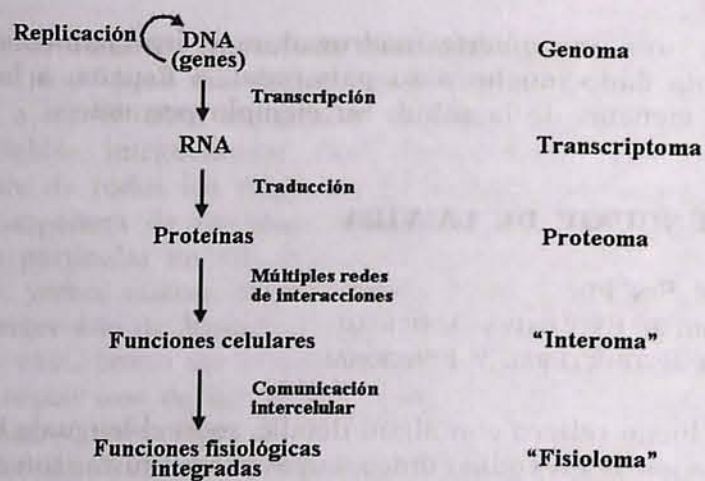
- FORMAS SIN FIN
- DIVERSIDAD EVOLUTIVA. UNICIDAD
- UNIDAD ESTRUCTURAL Y FUNCIONAL

Como luego refiero con algún detalle, todo el lenguaje biológico gira alrededor de un código único, cuyos protagonistas son dos bases púricas (la adenina y guanina) y dos bases pirimidínicas (citosina y timina o uracilo). En la afinidad de la adenina por la timina y de la citosina por la guanina radica todo el secreto del lenguaje de la vida, que se transmite de generación en generación en los ácidos nucleicos de los genes. Infinitas secuencias posibles de las cuatro letras genéticas asociadas de tres en tres e infinitas secuencias posibles también de los veinte aminoácidos proteinogénicos.

Cada ser distinto, único, y en permanente evolución. «Formas sin fin» y, a la vez, unidad de lenguaje en todos los seres vivos. Igual código genético, iguales mecanismos de expresión, igual moneda energética (el ATP), iguales ciclos metabólicos básicos, iguales mecanismos de regulación. Y todos estos procesos y fenómenos, basados en un reconocimiento molecular que se ejerce también por complementariedad espacial, por exacto acoplamiento o ensamblaje –como la llave y la cerradura– de las conformaciones tridimensionales de las proteínas (estructurales, enzimas, receptores, activadores, inhibidores...) y sus cofactores. Formas sin fin. Formas fisiológicas y formas patológicas. Formas reversibles y formas irreversibles. La salud y la enfermedad son el reflejo de estas formas sin fin.

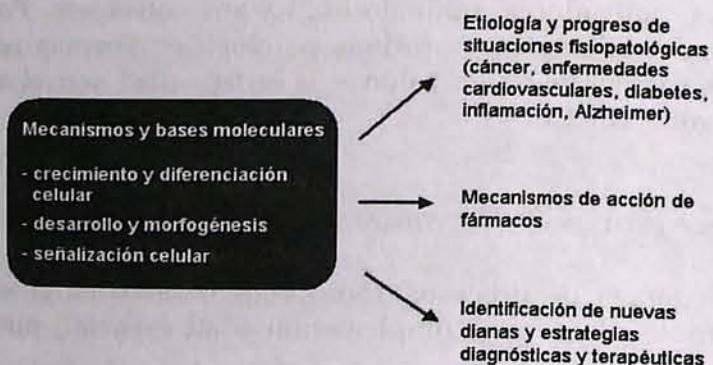
- GENES / PROTEÍNAS / ACTIVIDADES

La secuencia de procesos, todos ellos basados en el «reconocimiento molecular» por complementariedad espacial, puede resumirse así:



Todos estos procesos están regulados por el entorno, en un complejísimo abanico de mecanismos de señalización celular, que regulan la expresión génica. En circunstancias fisiológicas, el desarrollo tiene lugar en un sistema en homeostasis, que puede alterarse de forma reversible (recuperación de la salud) o irreversible (muerte orgánica), según que las condiciones, devenidas patológicas, recuperen el ritmo normal.

Las bases moleculares del crecimiento, disfunción celular y morfogénesis no sólo permiten la interpretación del funcionamiento altamente integrado y condicionado del organismo en su conjunto, sino establecer la etiología de las alteraciones y disfunciones. En este mismo contexto se sitúan las posibilidades diagnósticas y la acción de los fármacos.



3. FISIOPATOLOGÍA MOLECULAR

- «Reconocimiento» a Escala Molecular y Celular
 - Receptores
 - Activadores / Inhibidores
- Mutaciones. Enfermedades Genéticas

El DNA es un polímero lineal de 4 unidades diferentes: dos bases pirimidínicas (citosina, C y timina, T o uracilo, U) y dos bases púricas (adenina, A y guanina, G) unidas al azúcar dextrosiribosa fosforilado. Los dextrosiribonucleótidos se unen por enlaces diester, formando un esqueleto de dextrosiribosa-fosfato y las cuatro bases en distinto orden o secuencia. En 1953, Watson y Crick descubrieron que el DNA consiste en dos cadenas de polinucleótido unidas por puentes de hidrógeno que se establecen entre las bases de cada una de las cadenas, adoptando la forma de doble hélice: la complementariedad espacial entre A y T, y C y G rige todo el lenguaje de la vida, ya que su «transcripción» al mRNA y «traducción» al lenguaje proteico por los tRNA se efectúa siempre por esta afinidad.

Es la secuencia de las bases, en resumen, la que determina la información genética contenida en cada gen, que se manifiesta por la secuencia de aminoácidos en las proteínas, determinada directamente por el DNA. Cada tres bases del RNA constituyen un triplete denominado «codón», porque codifica –uniéndose al triplete complementario de los tRNA– el orden y naturaleza de la proteína.

Con las cuatro bases presentes en los DNA, el número total de «tripletes» posibles es de 64 y son sólo 20 los aminoácidos presentes en las proteínas, lo que significa que un aminoácido dado puede ser codificado por más de un triplete, con afinidad distinta. Los *exones* son los segmentos de DNA cuya secuencia se traduce en proteínas. Los *intrones*, no codificantes, se sitúan entre los exones. El mRNA, una vez separados los intrones, abandona el núcleo y, en los ribosomas citoplasmáticos, es «traducido» a proteínas, por efecto de los tRNA transportadores de los aminoácidos.

Tras la síntesis, la funcionalidad de una proteína depende de su activación mediante modificaciones estructurales por proteólisis, introducción de grupos funcionales, fosforilación, etc. hasta adquirir la conformación espacial adecuada para su actividad. Las mutaciones son alteraciones que sufren, a un ritmo que puede acelerarse por efecto de condiciones mutagénicas del entorno, los

genes en su secuencia y, por tanto, en su funcionalidad potencial. Algunas mutaciones no afectan o lo hacen en grado imperceptible, la actividad de las proteínas derivadas. Otras, en cambio, reducen o anulan su capacidad funcional. Pueden tener lugar por merma o pérdida de nucleótidos, por inserción o aumento de los mismos, o por sustitución de un nucleótido por otro. Pueden afectar la transcripción, la formación del mRNA activo o su procesamiento en los ribosomas. Todas ellas conducen a una proteína deformada en relación a la normal, que puede tener graves consecuencias patológicas, según la capacidad funcional que guarda y la relevancia de su función metabólica.

El cambio fenotípico causado por una mutación puede ser debido –lo más habitual– a la disminución o pérdida de actividad del producto genético o por «ganancia de funciones anormales».

Las enfermedades genéticas se clasifican en:

- a) Cromosomopatías, en las que se pierden, duplican o sufren translocaciones uno o más cromosomas;
- b) Monogénicas o de herencia mendeliana, en el que el defecto se localiza en un solo gen;
- c) Multifactoriales, causadas por la interacción de varios genes defectuosos y de factores externos.

En el excelente compendio del Prof. José Antonio Lozano Teruel (1) se halla el mapa patológico de los cromosomas humanos, por José Antonio Abrisqueta. Los cromosomas 1,11 y X destacan, hasta ahora, por su «patogeneidad». Carlos Alonso y colaboradores describen con detalle las sondas polimórficas y la terapia génica, y autores del prestigio de Xavier Estivill describen la fibrosis quística.

Dentro de las enfermedades monogénicas pueden distinguirse tres patrones de herencia: autosómico dominante, autosómico recesivo y ligado al sexo. Aunque el defecto sea monogénico, el fenotipo clínico y bioquímico puede ser modulado por multitud de factores externos, genéticos y epigenéticos. Es importante destacar aquí las «enfermedades mitocondriales», en las que se hallan implicados genes codificados por el DNA mitocondrial, por lo que las mutaciones se heredan exclusivamente vía materna.

Los polimorfismos son variaciones en «la escritura» del DNA, debidas a cambios puntuales o en segmentos de distinta extensión. Se llama «polimorfismo genético» a la variación hereditaria en la que la proporción de los que portan un determinado alelo excede del 1%. La distinción entre «polimorfismo» y «mutación patogénica» se

establece también por la intensidad del efecto: los polimorfismos reflejan la individualidad bioquímica pero promueven en general cambios de función menos drásticos. Sin embargo, en determinadas enfermedades multifactoriales, los polimorfismos pueden modificar la función y expresión de los genes, contribuyendo a la patogénesis (cáncer, diabetes, enfermedades cardiovasculares, etc.).

El estudio de los receptores ha permitido, en los últimos años, una mejor comprensión de los mecanismos de «señalización» celular y, en consecuencia, del equilibrio dinámico que condiciona la salud y de las alteraciones que conducen a la enfermedad. Unas reacciones extraordinariamente sutiles de activación e inhibición –a su vez dependientes de la «funcionalidad» de las reacciones que producen los inhibidores y activadores en un momento dado– son las que permiten, en un conjunto complejo e integrado, la homeostasis del sistema.

La disponibilidad de DNA era esencial para estudios etiológicos y analíticos. El desarrollo de la técnica de la PCR –«polimerasa/cadena/reacción»– en 1985, representó un avance espectacular por la capacidad de reproducir el material genético en cantidades considerables para el estudio en profundidad de los defectos metabólicos innatos.

Actualmente, mediante la amplificación que permite la PCR, se están investigando a gran escala los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP). Es precisamente sobre la gran «finura» de esta unicidad polimórfica y evolutiva de cada ser que se ha desarrollado el concepto de individualidad genética.

El «proyecto genoma humano» ha contribuido a un avance rapidísimo de las tecnologías de secuenciación y análisis de los genes humanos. Los «chips» de DNA permiten realizar múltiples análisis simultáneamente, requiriendo unos volúmenes de muestra y de reactivos escasísimos. En un portaobjetos de cristal se provoca la hibridación entre las moléculas de cDNA o los oligonucleótidos fijados en el soporte y la muestra de DNA a analizar, que se marca con fluorescencia. El perfeccionamiento de los chips de DNA favorecerá el desarrollo de la medicina predictiva.

• PROTEINOPATÍAS / RECEPTORPATÍAS

En la mayoría de los errores innatos se han encontrado los genes mutados, responsables de la alteración, ya que producen

proteínas inhábiles para el ejercicio de su función. Estas proteínas son principalmente enzimas (enzimopatías) pero existen también receptores afectados (receptorpatías), proteínas de transporte y estructurales, hormonas, factores de coagulación, inmunoproteínas, hemoglobinas, etc.

Como sucede en todas las enfermedades, se han descrito en primer lugar aquellas cuyos síntomas eran más perceptibles para los sistemas de observación disponibles. Desde la observación directa a la que requiere complejos dispositivos de diagnóstico. Ya Pitágoras constató la distinta reacción que presentaban algunas personas frente al mismo estímulo: la ingestión de «habas de mayo», de *Vicia faba*. Posteriormente, el «favismo» ha sido estudiado con gran detalle.

En 1902, Archibold Garrod describió la primera «enzimopatía», la *alcaptonuria* porque la orina de los pacientes se volvía negra al poco tiempo de emitida.

La anemia falciforme —debido a los glóbulos rojos en forma de hoz— es la primera alteración que, por la clara visibilidad al microscopio de la deformación del eritrocito, permite vislumbrar la ampliación a escala celular de una alteración en la secuencia proteica de la hemoglobina. Era el principio de un largo camino que llegaría a establecer la relación entre los genes, las proteínas, el polimorfismo, el genoma, los DNA-chips (medicina predictiva) y la farmacogenética (tratamiento «personalizado»), todos los cuales tienen sus raíces en sencillos cambios de «letras» en las palabras de la vida, de cada vida, en la secuencia de las bases púricas y pirimidínicas del DNA genético.

Hoy se conocen unas 470 alteraciones reconocidas como errores congénitos del metabolismo y es muy probable que el crecimiento exponencial no se detenga, ya que, teóricamente, es previsible que ningún elemento homeostático sea invulnerable y, por tanto, la lista de errores congénitos puede aumentar hasta que todas las variantes de todas las proteínas integrantes de todos los sistemas homeostáticos sean incluidas en ella.

Magdalena Ugarte, con Lourdes Ruiz-Desviat y Belén Pérez ha realizado una excelente revisión de las bases moleculares de las enfermedades hereditarias (2).

Algunos errores innatos son monogénicos. Otros, la mayoría, son multigénicos. La interacción de estas características, que son patológicas o pueden llegar a serlo en determinadas circunstan-

cias, refleja la inmensa complejidad del conjunto y conduce al concepto de individualidad bioquímica (3) que ya entreviera lúcidamente Garrod en 1909 («individualidad química»). Al proponer la denominación de «unidad-etapa de homeostasis» (USH) en lugar de «errores congénitos del metabolismo», Barton Childs y col. (3) sostienen que dicha denominación, más amplia, permite expresar a la vez: la relación unitaria de una proteína o péptido con su gen; el papel de la proteína como un elemento unitario, singular, en un mecanismo de homeostasis bien caracterizado; y todos los grados de las variaciones cuali y cuantitativas, tanto de la estructura como de la función de la proteína en su papel homeostático. Así, esta denominación puede aplicarse tanto a la razón básica de las enfermedades monogénicas, como a los componentes de una enfermedad multigénica o fracción de un sistema que funciona adaptativamente. En la definición tradicional se hace siempre referencia a disfunción, error, desviación. En este caso, se habla, más propiamente, de variaciones. Las variaciones de la USH son más compatibles con la individualidad bioquímica, que incluye todas las variaciones, sea cual sea su capacidad de adaptación a los complejísimos y altamente regulados sistemas homeostáticos.

Los seres humanos son sistemas abiertos, que intercambian materia y energía con su entorno en favor del crecimiento y del mantenimiento. La individualidad de estos sistemas abiertos reside en la variación de las proteínas que constituyen sus «unidades-etapas», las cuales son a su vez un reflejo de los genes que las especifican. Esta «unicidad» se expresa en diferencias en la forma en que los sistemas homeostáticos responden a las exigencias del desarrollo, primero, del envejecimiento más tarde. Puesto que el organismo en su conjunto se halla constituido por la integración de múltiples sistemas homeostáticos, las variaciones por mutación en uno pueden reflejarse en otros, cada uno de los cuales se conducirá según su propia variación genética y de desarrollo. Este concepto lleva a una «versión personalizada» de la enfermedad.

Las proteínas —y, por tanto, los genes de los que dependen— determinan las cualidades de los fenotipos de cada individuo según su efectividad en el desempeño de la función que les corresponde, así como por su capacidad para integrarse con otras etapas de su sistema. La efectividad variará según las diferencias alélicas, dentro del «locus» que especifica cada «etapa» y por las

variaciones en la capacidad de los elementos asociados en el sistema para trabajar conjuntamente.

Al reconocer el papel angular de las proteínas homeostáticas se reduce a más justos términos el «determinismo genético» que prevalecía, ya que no es el gen el que determina el fenotipo sino su producto, actuando conjuntamente con otros en el organismo integrado. En otras palabras, la nueva definición –tégase en mente a partir de ahora al hablar de errores metabólicos congénitos, una formulación más tradicional– comprende no sólo los aspectos estructurales sino la complejidad fisiopatológica de su funcionamiento en un sistema interactivo.

Childs, Valle y Jiménez-Sánchez (3) establecen la cronología (resumida en la tabla I) de ideas y acontecimientos en genética, medicina y los errores innatos.

La diferencia es genética, la identidad es fisiológica: la diferencia radica en la distinción entre enfermedades monogénicas (errores congénitos) y los desórdenes multigénicos no segregados. Las diferencias clínicas se hallan asociadas a un *gradiente* del efecto selectivo en el cual las variantes menos adaptables producen las más graves consecuencias, muy frecuentemente en el útero. Es probable que la mayoría de las enfermedades humanas con efectos letales tengan lugar allí. Hoy se considera que el 60-80% de los «concebidos» no llegan a término. Lo mismo sucede con los errores metabólicos de manifestación postnatal: es en las primeras etapas cuando se expresan. Todos los fenotipos son complejos en grado variable; todos deben describirse en el contexto de filogenia, de maduración y de vida cotidiana. De este modo, la enfermedad de cualquier naturaleza se define como la consecuencia de una incongruencia entre las reacciones variables de homeostasis y las condiciones a las cuales tratan de adaptarse.

TABLA I

Décadas	Genética		Errores Congénitos		Medicina	
	Conceptos	Acontecimientos	Conceptos	Acontecimientos	Conceptos	Acontecimientos
1902-1910	"Gene" en abstracto	Redescubrimiento del mendelismo	Errores congénitos heredados por deficiencia s enzimáticas recesivas con fenotipos visibles. Individualidad química.	Alcaptonuria, cistinuria, albinismo, pentosuria	El cuerpo como una máquina. Mentalidad monoetiológica.	Infecciones Grupos sanguíneos Anomalías congénitas
1910-1930	Gene operacional	Teoría cromosómica Recombinación Alelismo		Antocianinas	Bioquímica. Enfermedad a nivel celular.	Vitaminas Deficiencias nutricionales Hormonas
1930-1950	Gene funcional Un gen – un péptido	Genética fisiológica Genética de poblaciones	Unidad en los procesos bioquímicos		Investigación clínica. Concepto de homeostasis	Antibióticos Rh-grupo sanguíneo Estudio bioquímico y fisiológico de las anomalías homeostáticas. Endocrinología. Inmunología
1950-1970	Gene estructural Colinealidad Individualidad genética	Genética bioquímica Polimorfismo Variedad de mutantes	El fenotipo deriva de proteínas variantes. Relación con el entorno. Los errores congénitos incluyen proteínas no enzimáticas	Variantes de la hemoglobina (aprox. 100 errores congénitos descritos)	Reconocimiento de las "enfermedades genéticas"	Se reducen las infecciones. Aumentan las enfermedades crónicas. Cambios en la fertilidad.
1970-presente	Genes moleculares deficientes con exones, intrones y elementos no transcritos con funciones de control	Estructura fina de genes, cromosomas y proteínas. Síndromes de micro-alteración genómica	Errores congénitos como variantes USH. La variante representa la vulnerabilidad que en determinadas condiciones se convierte en enfermedad. Enfermedades mono y multigénicas Individualidad genética	Conocimiento de las variantes genéticas. Análisis de enfermedad de origen muy complejo. Nuevas formas de tratamiento	Enfermedad genética. Genes en las enfermedades multifactoriales. Patogénesis molecular Prevención Temas éticos	Proliferación de Departamentos y Centros de estudio de genética médica. Selección masiva. Diagnóstico precoz.

• DESDE LA ANEMIA FALCIFORME AL FUNCIONAMIENTO DE LA BARK

Era lógico que fueran las alteraciones de la hemoglobina, una de las proteínas más fácilmente asequibles, las primeras en dilucidarse, sobre todo cuando la deformación proteica se amplía a escala celular. Se conocen hoy decenas de mutaciones en la secuencia de aminoácidos de la hemoglobina, formada por dos cadenas α (α_1 y α_2) y dos cadenas β (β_1 y β_2). Algunas afectan la captación de hierro y el transporte de O_2 ; otras, la disposición espacial de las cadenas α y β , requerida para el correcto contacto α - β . Cuando se afecta la afinidad por el O_2 , se producen situaciones patológicas como consecuencia de una liberación excesivamente lábil en caso de poca afinidad, o de una liberación muy reducida cuando la afinidad es alta. En este último caso se genera una policitemia, al necesitar el organismo mayor número de eritrocitos para compensar la «pereza molecular» producida.

La anemia falciforme afecta al 10% de los negros americanos y hasta el 25% de los africanos, como heterocigotos que, con el 1% de los eritrocitos deformados, presentan una considerable resistencia frente a la malaria. Los homocigotos, con el 50% de glóbulos rojos en forma de hoz, padecen una fuerte anemia hemolítica y problemas circulatorios debido al cambio de configuración del eritrocito.

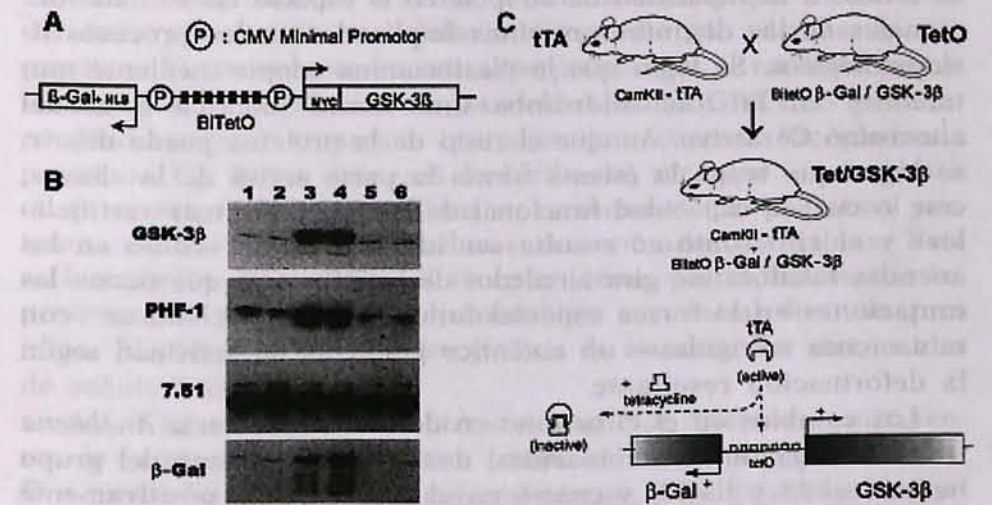
La modificación tan espectacular en la forma de la molécula de hemoglobina y de la célula que contiene se origina por un simple cambio: el residuo hidrofílico de ácido glutámico en la posición 6 de la cadena $\alpha 1$ se sustituye por el residuo hidrofóbico de la valina. Los clásicos trabajos de Ingram demostraron que:

Hb	A	cadena	val-his	-leu	-treo	-pro	glu	-glu	-lis
Hb	S	cadena	val-his	-leu	-treo	-pro	val	-glu	-lis

Una sola alteración en un lugar esencial funcionalmente produce una «proteíopatía» de tanto relieve estructural y fisiológico.

El grupo dirigido por Jesús Ávila, del Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa», ha conseguido progresos considerables en el esclarecimiento de la implicación de las proteínas del citoesqueleto en la morfogénesis neuronal. La proteína MAP1 β tiene un efecto relevante en el desarrollo del axón y en su regeneración. Asimismo, la disfunción de una proteína del citoesqueleto neuronal,

la proteína TAU, induce a la formación de ovillos neurofibrilares, estructuras relacionadas con la aparición de la demencia, presentes en los cerebros de pacientes de la enfermedad de Alzheimer. En estos estudios utilizan ratones transgénicos que sobreexpresan una quinasa que fosforila la proteína TAU de manera aberrante en la enfermedad de Alzheimer, o bien que sobreexpresan la proteína TAU con unas mutaciones que favorecen su polimerización patológica (4).



En la enfermedad de Alzheimer presenil, está bien establecido el efecto de las pre-senilinas sobre el metabolismo cerebral. En la enfermedad senil, se ha progresado mucho en el conocimiento de «qué» sucede, y es de esperar que pronto sepamos «por qué» sucede. A este respecto, los imaginativos trabajos realizados por Valdivieso y colaboradores (5), en el Departamento de Biología Molecular y el CBM, han permitido esclarecer diversos aspectos que convergen en una enfermedad que está adquiriendo un protagonismo singular, a medida que la longevidad promedia es mayor.

Las enfermedades neurodegenerativas (EN) por proteíopatías han sido descritas en el año en curso por el Prof. José M^a Segovia de Arana (6). Refiere que, según Prusiner, en las EN las proteínas neuronales presentan algún tipo de las anomalías siguientes:

- a) Plegamiento anormal de proteínas.
- b) Alteraciones en las modificaciones post-translacionales de proteínas nuevamente sintetizadas.
- c) Anormalidades en el proceso proteolítico.
- d) Anomalías en los genes que intervienen en el acoplamiento.
- e) Expresión impropia.

Fernando Publio Molina Heredia (7) ha realizado, en fechas recientes, importantes contribuciones a la innogenética, tanto en sus aplicaciones diagnósticas como terapéuticas. Una vez más, todo se refiere a la capacidad de adoptar en el espacio las formas funcionales de las distintas proteínas implicadas en los procesos fisiopatológicos. Se logra que la plastocianina adopte mediante mutaciones en la zona hidrófoba una forma idéntica a la del citocromo C6 activo. Aunque el resto de la proteína pueda diferir, se logra que tenga la misma forma la parte activa de la «llave», con lo cual la capacidad funcional de las plastocianinas «artificiales» y el citocromo c6 resulta ser idéntica. Todo –como en las anemias falciformes– gira alrededor de la influencia que tienen las mutaciones en la forma espacial funcional, estableciéndose –con mutaciones «dirigidas»– un auténtico gradiente de actividad según la deformación resultante.

Los cambios en el citocromo c6 de la cianobacteria *Anabaena* tuvieron lugar en 6 aminoácidos, dos cercanos al área del grupo hemo (val-25 y lis-29) y cuatro en el área cargada positivamente (lis-62, arg-64, lis-66 y asp-72). La primera, hidrofóbica, realizada la transferencia de electrones al p700 y la segunda, cargada positivamente, dirige la atracción electrostática hacia el fotosistema I para formar un complejo transitorio. En una publicación ulterior (8) el mismo equipo ha demostrado que se requiere un solo residuo de arginina –arg 88– para la eficiente reducción del fotosistema I. El residuo de arginina se halla al lado de una histidina, en posición 87, ligando del cobre. Si se reemplaza la arginina por glutamina o por glutámico, la capacidad de transferencia de electrones se reduce o anula.

Todos son «proteíopatías», alteraciones funcionales circunstanciales o irreversibles, desde la proteína de los glóbulos rojos hasta quinasas como la β ARK, que ocupa un lugar central en la fisiopatología de ciertos receptores.

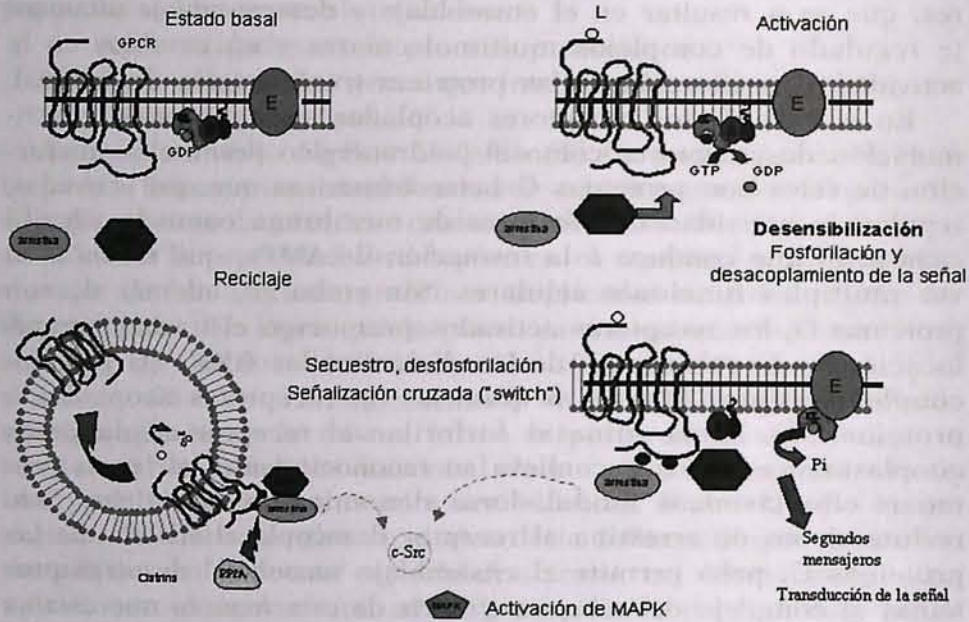
La señalización mediada por receptores de membrana constituye un claro ejemplo de cómo el acto de reconocimiento mole-

cular entre un ligando y su proteína receptora promueve una oleada de cambios en la conformación de diversas proteínas celulares, que va a resultar en el ensamblaje y desensamblaje altamente regulado de complejos multimoleculares y en cambios en la actividad y localización de las proteínas transductoras de la señal.

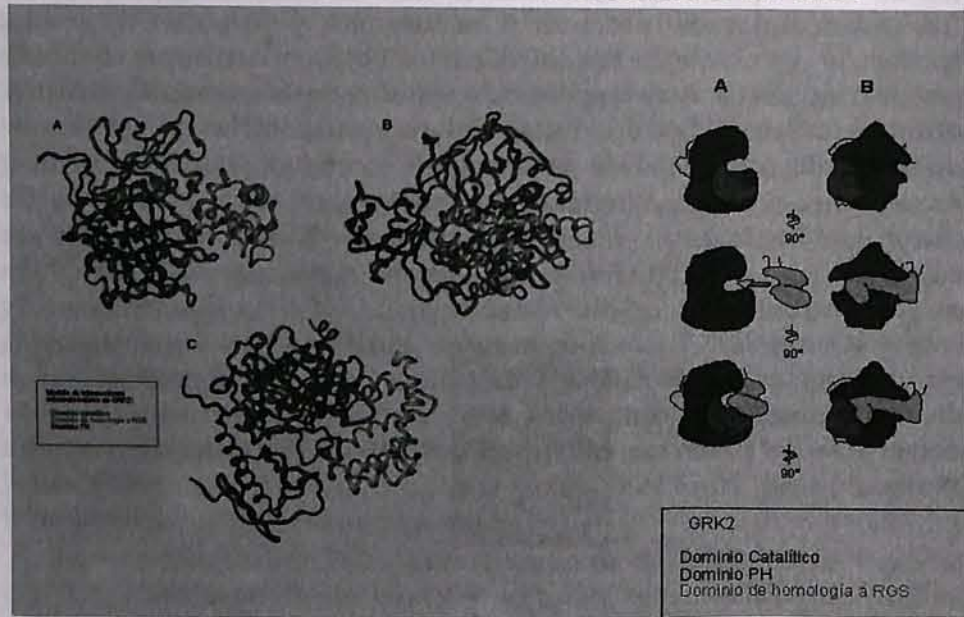
En el caso de los receptores acoplados a proteínas G, la estimulación de receptores como el β -adrenérgico permite la interacción de éstos con proteínas G heterotriméricas que, así activadas, regulan la actividad de efectores de membrana como la adenilil ciclasa, lo que conduce a la formación de AMPc, que media a su vez múltiples funciones celulares. Sin embargo, además de con proteínas G, los receptores activados promueven el traslado (translocación) a la membrana de las denominadas GRKs (G protein-coupled receptor kinases o quinasas de receptores acoplados a proteínas G). Estas quinasas fosforilan al receptor en dominios citoplasmáticos, lo que conlleva su reconocimiento por otras proteínas citoplásmicas moduladoras denominadas arrestinas. Este reclutamiento de arrestina al receptor desacopla el sistema de las proteínas G, pero permite el ensamblaje secuencial de otras proteínas al complejo del receptor y abrir de esta manera nuevas vías de señalización.

Así, GRKs y arrestinas interactúan con diversos componentes de la maquinaria endocítica (como clatrina), dirigiendo el tráfico intracelular del receptor a endosomas, y su posterior desfosforilación y reciclaje. Por otra parte, GRKs y arrestinas también pueden atraer a otras proteínas señalizadoras, como la tirosina quinasa c-Src, a las cercanías del receptor, iniciando así la modulación de otras vías de señalización como las «cascadas» de quinasas mitogénicas. Puede verse, por tanto, cómo el proceso de estimulación de estos receptores promueve toda una secuencia de cambios en la localización, actividad, interacciones y tráfico de múltiples proteínas celulares, controlando así coordinadamente la respuesta celular. Estos procesos de señalización y regulación y el estudio del papel de GRKs y arrestinas en diversas patologías cardiovasculares e inflamatorias son el principal objetivo de trabajo del grupo de Federico Mayor Menéndez en el Centro de Biología Molecular (9, 10, 11).

ACTIVACIÓN, DESENSIBILIZACIÓN Y RECICLAJE DE RECEPTORES ACOPLADOS A PROTEÍNAS G



MODELO DE INTERACCIONES INTRAMOLECULARES DE GRK2



4. METABOLOPATÍAS CONGÉNITAS Y ADQUIRIDAS

• CONGÉNITAS

Se trata, en su mayoría, de enzimopatías, al alterarse reacciones de los procesos metabólicos y de aquellas que concurren en la regulación de los mismos. La producción –o acúmulo en mayores cantidades de las habituales– de un metabolito «indebido» conduce a lesiones y disfunciones de distintos grados de severidad.

Su prevención implica un diagnóstico y tratamiento a tiempo. Estos objetivos fueron los que llevaron a la creación del Centro de Diagnóstico de Enfermedades Moleculares (CEDEM), en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid, en 1973, que tuvo su origen en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Granada en 1968, cuando presenté a la Dirección General de Sanidad un plan para la detección precoz y prevención de las alteraciones metabólicas congénitas. El objetivo fundamental era detectar en recién nacidos enfermedades hereditarias evitables, que cursan, en general, con retraso mental irreversible. El Director General era D. Jesús García Orcyoyen. El Secretario Técnico D. Enrique de la Mata Goroztizaga. A ambos quiero recordar en este momento, porque a pesar de los numerosos problemas sanitarios acuciantes a los que tenían que hacer frente, decidieron que se iniciara una primera etapa en la provincia de Granada. Confié, con cuánto acierto, estas tareas a la Dra. Magdalena Ugarte a quien se debe la puesta en práctica del plan en la Jefatura Provincial de Sanidad de Granada y, después, su ampliación a escala nacional. Buena parte de la información que suministro en este apartado procede de la excelente recopilación que realizó la Dra. Ugarte con motivo de la concesión, en 1982, del Primer Premio Reina Sofía de Investigación en materia de prevención de la subnormalidad (12).

En poco tiempo –acompañados de la «suerte de los audaces»– detectamos un primer caso de fenilcetonuria y se fue configurando el plan piloto, que orientó su implantación sucesiva en toda la geografía española y se inició la participación en las reuniones especializadas internacionales, así como la investigación bioquímica y genética, para contribuir al conocimiento científico de un capítulo tan importante de la medicina preventiva.

Más adelante se añadieron las enfermedades cromosómicas (Centro de Investigación de alteraciones Moleculares y Cromosómicas, CIAMYC) y –ante la evidencia de un gran porcentaje de niños afectos sin alteración genética– se comenzaron los estudios de las alteraciones sobrevenidas en el momento del parto (bioquímica perinatal).

Las memorias anuales de aquellos primeros años –con más de 20.000 análisis– demostraron la importancia de preparar grupos de investigadores y analistas bien capacitados tanto técnica como conceptualmente, que saben con exactitud lo que persiguen y lo que deben hacer en cada momento. Se detectaron varios casos y, en íntima conexión con los clínicos, se aplicaron tratamientos que tuvieron en la mayoría de los pacientes el éxito apetecido, y que permitieron contribuir a mejorar los remedios (dietéticos, hormonales, etc.) aplicados a cada disfunción.

En 1975 se firmó un convenio con el Instituto Nacional de Previsión y, a finales de 1976, se comenzó la elaboración del Nuevo Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad, en el marco del ya constituido Patronato de Educación Especial y Atención a Deficientes, presidido por Su Majestad la Reina. En 1977, Año Internacional del Niño, con la colaboración de muchos especialistas (pediatras, neonatólogos, ginecólogos, obstetras, neurocientíficos, bioquímicos, analistas clínicos...) tuve el honor de presentar la versión actualizada del Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad al Real Patronato de Educación Especial. El grupo de trabajo que, contando con la inestimable experiencia de Magdalena Ugarte, lo había elaborado, incluía, entre otras, a personas de tanto renombre en los temas abordados como José Antonio Abrisqueta, José Arizcum, Angel Ballabriga, Francisca Ballesta, José Botella Llusía, Manuel Bueno, Jaime Campos, Cipriano Canosa, Enrique Casado, Federico Collado, José Egozcue, Gertrudis de la Fuente, Antonio Martínez Valverde, Juan Sabater Tobella, Andrés Sánchez-Cascos, Rafael Tojo, Ignacio Villa Elízaga y José Zamarriego Crespo. Por Real Decreto de 15 de Agosto de 1978, fue aprobado para su puesta en práctica. La Dirección General de Salud Pública, con el asesoramiento, a partir de 1980, del Consejo Nacional de Prevención, se encargó de tutelar la eficaz aplicación de las medidas de toda índole, entre ellas, las alteraciones congénitas del metabolismo –aminoacidopatías e hipotiroidismo– que producen un deterioro progresivo de la actividad cerebral y

pueden evitarse mediante acciones terapéuticas oportunas durante las primeras semanas de vida.

Quiero destacar, en lo que al defecto más frecuente se refiere, el hipotiroidismo, la insustituible cooperación de Gabriela Morreale y Francisco Escobar. La Dra. Martínez Frías, por su parte, constituyó, progresivamente y con laudable esfuerzo, el Centro de detección de malformaciones congénitas.

Fueron surgiendo hasta 12 laboratorios especializados en España, con una «zona» que permitiera entre 30.000 y 100.000 análisis de detección al año, lo que garantiza la realización de las pruebas a todos los recién nacidos en España. En la recopilación presentada por la Profesora Ugarte al International Meeting of Neonatal Screening, en Japón en 1982, se comunica la detección precoz de casi 300 alteraciones en recién nacidos: 75 casos de hipotiroidismo congénito, de fácil y eficaz tratamiento, y más de 100 casos de hiperfenilalaninemia y de fenilcetonuria, evitables a través del tratamiento dietético adecuado. En el año 2000, los niños hipotiroideos y fenilcetonúricos detectados y tratados a tiempo ascienden a 3.200 y 750, respectivamente.

Además de los pacientes se estudia a las familias para identificar a los heterocigotos portadores de la enfermedad.

En la fenilcetonuria, por ejemplo, se ha demostrado que el fenilpiruvato –metabolito de la fenilalanina– altera la normal mielinización del cerebro en desarrollo, mientras que la fenilalanina inhibe el transporte sinaptosomal de tirosina y triptófano, lo que conduce a una biosíntesis disminuida de neurotransmisores, catecolaminas y serotoninas respectivamente. Ya he referido con algún detalle las alteraciones propias de esta metabolopatía congénita, pero quiero añadir que la Dra. Ugarte ha demostrado, en el mismo marco conceptual, que la hiperglicinemia secundaria a las acidemias propiónica y metilmalónica tiene su origen en la inhibición del transporte mitocondrial de la glicina por los metabolitos patógenos de ambas acidemias orgánicas.

• MANIFESTACIÓN POSTNATAL

Se trata de aquellas alteraciones que cursan normalmente con un grave deterioro de la funcionalidad cerebral, que sólo se ponen de manifiesto cuando se ha adquirido la vida autónoma y la

acción supletoria ejercida por la madre ha concluido. Es evidente que la capacidad de aplicar un tratamiento efectivo dependerá de la rapidez con que tiene lugar la afección irreversible en el cerebro, que depende a su vez de la mayor o menor importancia fisiológica de las reacciones alteradas. Todo ello aconseja un diagnóstico precoz, en las primeras horas de vida y una rápida disponibilidad del tratamiento, con el fin de que no lleguen a producirse modificaciones y efectos neurotóxicos que ya no pueden corregirse ulteriormente o sólo lo hacen de un modo parcial.

- **MANIFESTACIÓN PRENATAL**

Cuando la alteración no puede ser suplida por la madre, las afecciones manifiestan ya durante la gestación una sintomatología que alerta sobre la existencia de deficiencias metabólicas, cuyo impacto en el normal desarrollo del embrión y del feto puede, en un gran abanico de trastornos neurológicos y motores, orientar las acciones terapéuticas correspondientes.

- **DESARROLLO PRE Y POST NATAL DEL CEREBRO**

En una publicación realizada con Fernando Valdivieso (13) reunía los grandes trazos de la generación y maduración neuronal, así como la situación en el momento del nacimiento. En el hombre como en la rata, la proliferación de los neuroblastos se prolonga hasta poco antes del nacimiento; en los primates y la mayoría de los animales termina alrededor del segundo tercio de la gestación. El futuro desarrollo de las neuronas (la emigración, la diferenciación, alineamiento, conexión y protección) tiene lugar en el primer caso después del nacimiento, mientras que en el segundo, ya se produce, en buena medida, antes de adquirir la autonomía vital. Además de las neuronas deben tenerse muy en cuenta las glías, y, de ellas, las macroglías, de las que se derivan los astrocitos y los oligodendrocitos. Éstos últimos parecen hallarse directamente implicados, junto con los axones, en el proceso de mielinización, cuya importancia en la fisiopatología de las alteraciones hereditarias es tan notable. El cerebelo de la rata neonatal proporciona un sistema único para el estudio del proceso de ma-

duración del sistema nervioso central. Múltiples estudios ontogénicos han conducido a los actuales conocimientos sobre la morfogénesis del cerebelo durante el proceso evolutivo. El cerebelo es comparativamente inmaduro en el momento del nacimiento. La maduración enzimática tiene lugar en las distintas estructuras a tiempos diferentes (primero, en las células de Purkinje, después en las de Golgi, etc.). Los resultados obtenidos en relación al metabolismo del ácido γ -aminobutírico, específico del cerebro, son de especial interés, ya que sugieren que, al menos en las fases iniciales del desarrollo neuronal postnatal, el ciclo vicario del γ -aminobutírico cumple un relevante papel fisiológico, con independencia de que, más adelante, puedan actuar, tanto el GABA, como sus derivados, en calidad de agentes neurohormonales.

Los procesos implicados en la conversión del neuroblasto inmaduro en la neurona plenamente funcional son múltiples y particularmente complejos. El crecimiento y diferenciación de las neuronas se halla regulado por distintos factores, entre los que destaca el factor de crecimiento nervioso (NGF).

La *mielinización*, que constituye un proceso esencial en relación a la vulnerabilidad cerebral (14), tiene lugar, en la rata, entre los días 10-21 después del nacimiento. El término del proceso coincide con el destete. En el hombre, la mielinización se inicia a los 4 meses de gestación y se completa a lo largo de la infancia. La mielogénesis no se produce de una manera uniforme en el sistema nervioso, ni su velocidad es la misma en las distintas partes del cerebro, lo que se debe tener muy en cuenta al investigar los efectos de sustancias interferentes ya que, según el momento que se considere, unas áreas estarán prácticamente mielinizadas mientras que otras se hallarán iniciando el proceso de protección y serán mucho más vulnerables.

- **ALTERACIONES DE LA ONTOGÉNESIS CEREBRAL**

Puesto que las etapas iniciales del desarrollo son las más vulnerables, la naturaleza las ha protegido convenientemente: en el seno de la propia madre. En esta ubicación existe un aislamiento físico del entorno (impactos mecánicos, fluctuaciones de temperatura, etc.), y una excelente regulación del acceso de metabolitos al feto.

Sólo cuando las alteraciones ambientales (individuales o colectivas, internas o externas) sobrepasan el umbral de protección materna pueden derivarse serios contratiempos para el desarrollo cerebral.

Los términos «teratológico» y «malformaciones» se aplican a anomalías estructurales. Los desordenes funcionales se denominan usualmente «alteraciones congénitas», «enfermedades metabólicas y hereditarias», etc... Los defectos teratológicos se producen antes del nacimiento, aunque la descripción de tales anomalías, si el feto es viable, tiene lugar según aparecen en el momento de nacer. Todo desarrollo anormal tiene una causa remota, seguramente, en algún aspecto ambiental nocivo. Incluso los defectos hereditarios pueden ser debidos a alteraciones de los genes de los predecesores, que han sido transmitidos después a las sucesivas generaciones. Si el efecto ambiental tiene lugar después de la fecundación, las anomalías que induce afectan exclusivamente a este ser, en el supuesto de que el feto sea viable. Las que modifican la «calidad» genética, en cambio, son transmisibles, ya que el nuevo ser hereda una carga genética con características alteradas.

Wilson resumió así (15) las causas de alteraciones en el desarrollo humano (Tablas II y III):

TABLA II

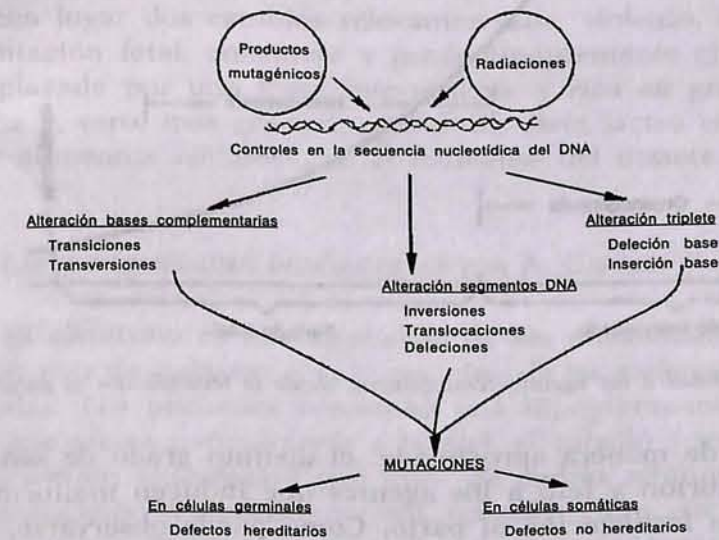
Causas de alteraciones en el desarrollo humano

Transmisión genética.....	20%
Aberraciones cromosómicas.....	3-5%
Causas ambientales:	
Radiaciones (terapéuticas, nucleares, etc.).....	1%
Infecciones (rubeola, sífilis, toxoplasmosis, etc.).....	2-3%
Desequilibrio metabólico materno (diabetes, cretinismo endémico, fenilcetonuria materna, etc.).....	1-2%
Medicamentos y productos químicos contaminantes (hormonas androgénicas, talidomida, anti-fólicos, etc.).....	2-3%
Desconocidas.....	65-70%

TABLA III

CAUSAS	que producen	MECANISMOS	que conducen a	MANIFESTACIONES
Radiaciones		Mutaciones		Muerte celular
Productos químicos		Deficiencias separación cromosomas		Alteración interacciones celulares
Desequilibrio dietético		Interferencias mitosis		Reducción procesos biosíntesis
Infecciones		Alteración integridad ac. nucleicos		Alteración morfogénesis
Hipoxia, hipercapnia, etc.		Alteración función ac. nucleicos		Alteración celular
Temperaturas extremas		Falta de precursores, sustratos, etc.		Alteración diferenciación
Desequilibrio metabólico		Alteración fuentes energéticas		
Desequilibrio endocrino		Alteración de las características y función de las membranas		<i>que resultan en:</i>
Trauma físico		Desequilibrio osmótico		Muerte intrauterina
Deficiencia placenta		Inhibición enzimática		Malformaciones
etcétera		Alteración regulación enzimática		Retraso desarrollo
		etcétera.		Déficit funcional
				Retraso mental, etcétera.

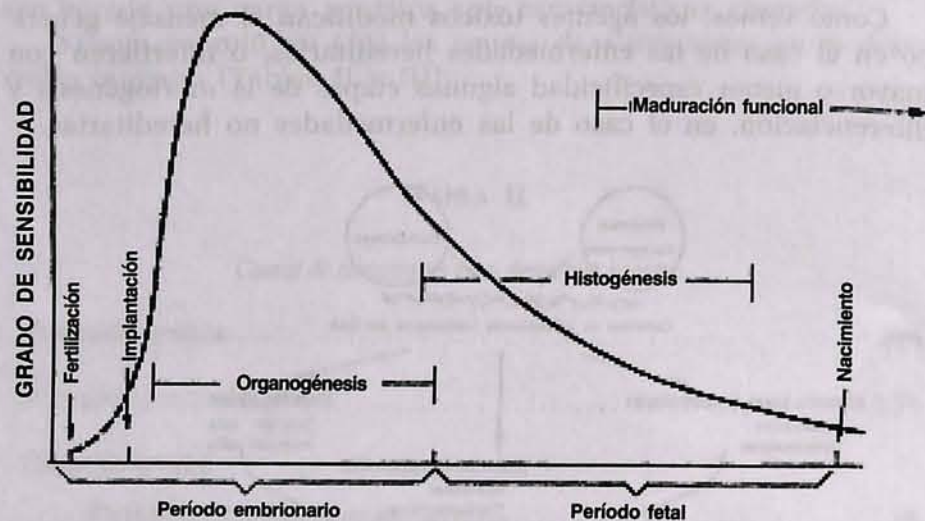
Como vemos, los agentes tóxicos modifican el mensaje genético en el caso de las enfermedades hereditarias, o interfieren con mayor o menor especificidad algunas etapas de la morfogénesis y diferenciación, en el caso de las enfermedades no hereditarias.



Mutaciones en células germinales y somáticas. Las primeras conducen a los trastornos hereditarios.

Puede apreciarse la diferencia esencial que existe entre mutaciones en células germinales –conducentes a trastornos hereditarios– y somáticas. En resumen, las reacciones iniciales de un sistema en desarrollo frente a cualquier interferencia se traducen en acontecimientos morfogenéticos o bioquímicos, que conducen, por último, a anomalías estructurales o funcionales. Existe, pues, una íntima relación entre estructura, función y acontecimientos bioquímicos y morfogenéticos. El proceso de desarrollo prenatal debe considerarse en la totalidad del sistema implicado, es decir, el conjunto madre-feto, de la misma manera que el desarrollo neo-natal y post-natal debe juzgarse considerando como sistema el conjunto ser vivo-entorno. Es precisamente al considerar en conjunto los sistemas mencionados cuando pueden establecerse con la precisión debida los diversos grados de sensibilidad o, lo que es lo mismo, de vulnerabilidad del ser en desarrollo, en sus distintas etapas.

En la figura:



Grado de sensibilidad a los agentes teratogénicos, desde la fecundación al parto.

se representa, de manera aproximada, el distinto grado de sensibilidad del embrión y feto a los agentes que inducen malformaciones desde la fertilización al parto. Como puede observarse, la mayor vulnerabilidad en lo que hace referencia a desviaciones estructurales, tiene lugar durante el periodo de la organogénesis.

Durante el periodo fetal, las alteraciones son, principalmente, de índole funcional. Las interferencias que conducen a retraso mental tienen una mayor incidencia –excepto en los casos en que las actividades enzimáticas deficitarias son requeridas para el desarrollo intrauterino o en aquellos otros en los que la malformación, de origen genético o no, incide precozmente en la morfogénesis– en el periodo prenatal y neonatal, debido al singular desarrollo del cerebro, especialmente en lo que se refiere a la producción de las estructuras que protegen las neuronas. El mayor grado de vulnerabilidad coincide, de forma evidente, con la mayor letalidad embrionaria.

Piénsese, en todas estas reflexiones, que estamos hablando del momento en que se visualiza una acción determinada sobre el proceso de diferenciación y desarrollo. De tal manera que puede ocurrir que las malformaciones reconocibles en un momento dado del proceso tengan su origen en la misma dotación genética o en una interferencia muy inicial de su normal expresión, que no se pone de manifiesto hasta más adelante, precisamente cuando es necesaria aquella actividad precozmente inhibida o alterada. Esta visualización puede tener lugar tanto durante el desarrollo gestacional como en el periodo neonatal, cuando al adquirir la vida autónoma cesa la acción protectora materna. En este momento tienen lugar dos cambios relevantes: uno, violento, cuando la alimentación fetal, constante y predominantemente glucídica es reemplazada por una dieta intermitente y rica en grasas, como la leche y, otro, más gradual, cuando la dieta láctea es reemplazada por alimentos «sólidos», en el momento del destete.

• LAS ENFERMEDADES DESCUBIERTAS POR A. GARROD

El *albinismo* es una alteración de los melanocitos que implica la síntesis de melanina y la interacción de los melanocitos con otras células. Los pacientes presentan una hipopigmentación congénita, que afecta normalmente a la piel, el cabello y los ojos. Puesto que pronto se constató que hijos de padres albinos poseían una pigmentación totalmente normal, quedaba claro que son múltiples los procesos implicados y, por tanto, los locus genéticos y la complementación alélica.

En la *alcaptonuria*, fue el equipo de la LaDu el primero en

demostrar, en 1958, el deficiente funcionamiento de la homogentisato 1,2-dioxigenasa, cuya herencia es autosómica recesiva, con distintas mutaciones ya identificadas.

La *cistinuria*, fue una de las primeras alteraciones en identificarse. En 1800 se describió una nefrolitiasis familiar y se hallaron cantidades anormales de cistina en orina. Se ha comprobado que se trata de una alteración del transporte a través de la membrana celular, por disfunción de un sistema selectivo que transporta los aminoácidos cistina, arginina, lisina y ornitina. Este transportador, de alta afinidad, se halla localizado en las células epiteliales, tanto en el intestino delgado como en el túbulo renal.

Es interesante destacar aquí las recientes e importantes contribuciones que en los últimos años han tenido los grupos españoles liderados por Santiago Rodríguez de Córdoba, Miguel Peñalva y Manuel Palacín al mejor conocimiento de las bases moleculares de la alcaptonuria y la cistinuria.

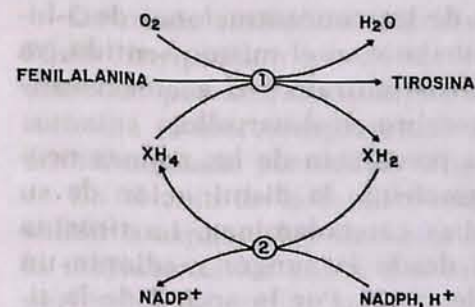
La *pentosuria* es el resultado de una L-xilulosa reductasa (xilitol-dehidrogenasa) alterada. No tiene efecto adverso en la salud. Constituye un «trazo bioquímico» característico de los «Ashkenazes».

• FENILCETONURIA

Error congénito del metabolismo que se produce como consecuencia de la deficiencia genéticamente controlada del sistema fenilalanina-hidroxilasa, que convierte la fenilalanina en tirosina en el hígado, y que consta de dos enzimas: la fenilalanina-4hidroxilasa y la dihidropterina reductasa, con la participación del coenzima tetrahydrobiopterina. La ausencia de cualquiera de estos tres componentes da lugar a un defecto en la hidroxilación de la fenilalanina a tirosina y, en consecuencia, origina fenilcetonuria.

El acúmulo de fenilalanina va acompañado del de sus productos metabólicos: fenilpiruvato, fenil-lactato, hidroxifenil-acetato y feniletilamina en los tejidos y fluidos biológicos de los pacientes.

El tratamiento a tiempo con una dieta de bajo contenido en fenilalanina disminuye sus niveles y previene el daño neurológico propio de la enfermedad. En la comunidad de Madrid más de 140 niños fenilcetonúricos detectados al nacimiento han sido tratados y controlado su desarrollo físico y psicológico por la Dra. Merce-



Sistema fenilalanina hidroxilasa
1) fenilalanina 4-hidroxilasa, y
2) dihidropteridina reductasa.

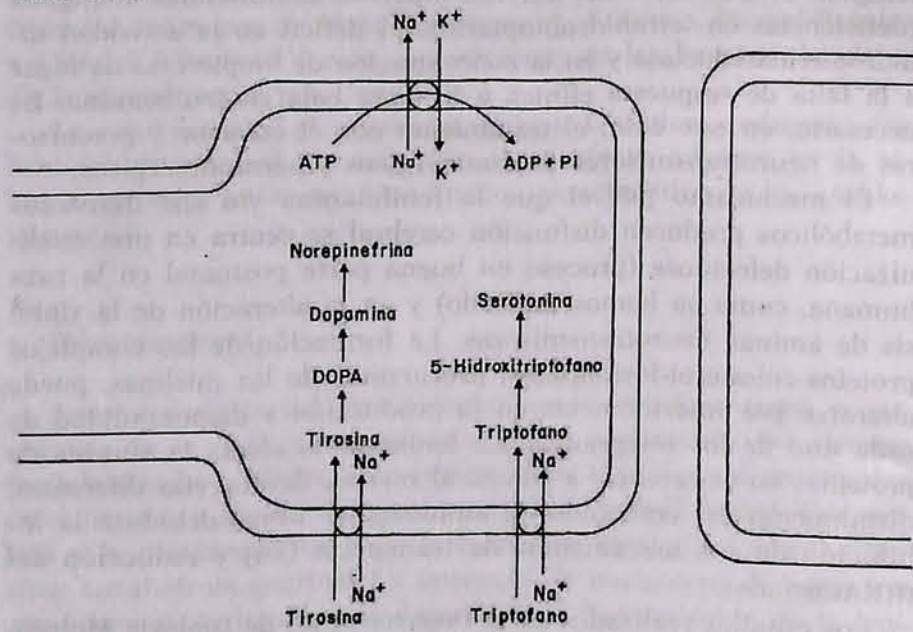
des Martínez Pardo, del Hospital Ramón y Cajal, con resultados excelentes que demuestran el beneficio inequívoco de la dieta restringida en fenilalanina. En las hiperfenilalaninemias malignas (deficiencias en tetrahydrobiopterina, el déficit en la actividad dihidropterinareductasa y en la concentración de biopterinas da lugar a la falta de respuesta clínica a la dieta baja en fenilalanina. Es necesario, en este caso, el tratamiento con el cofactor y precursores de neurotransmisores dopaminérgicos y serotoninérgicos.

El mecanismo por el que la fenilalanina y/o sus derivados metabólicos producen disfunción cerebral se centra en una mielinización defectuosa (proceso en buena parte postnatal en la raza humana, como ya hemos indicado) y en la alteración de la síntesis de aminas neurotransmisoras. La formación de los complejos proteína-colesterol-fosfolípidos, precursores de las mielinas, puede alterarse por interferencias en la producción y disponibilidad de cada uno de los integrantes. La fenilalanina afecta la síntesis de proteínas en el cerebro, a través, al menos, de dos vías diferentes: disminución del contenido de aminoácidos libres debido a la inhibición de sus mecanismos de transporte (16) y reducción del tRNA iniciador.

Los estudios realizados en el Departamento de Biología Molecular de la Universidad Autónoma por Valdivieso, Ugarte, Maties y Giménez, en ratas con fenilcetonuria experimental, demostraron que las altas concentraciones de fenilalanina circulante interfieren con la glucólisis, dando lugar a un descenso de piruvato. La inhibición de la glucólisis en el cerebro puede ser un factor importante en la patogénesis de la disfunción cerebral de la fenilcetonuria, debido a la disminución de la cantidad de acetil-CoA disponible para la síntesis de lípidos en el cerebro. Por otra parte, la inhibición de la 3-hidroxi-butirato deshidrogenasa hepática por el fenilpi-

ruvato, dando lugar a la reducción de las concentraciones de 3-hidroxipiruvato en sangre, puede contribuir en el mismo sentido, ya que los cuerpos cetónicos –el 3-hidroxibutirato y el acetoacetato– son utilizados activamente por el cerebro en desarrollo.

Por otra parte, al ser la tirosina precursora de las aminas neurotransmisoras dopamina y norepinefrina, la disminución de su síntesis reduce los niveles de ambas catecolaminas. La tirosina entra en la neurona presináptica desde la sangre mediante un sistema de transporte dependiente de sodio. Por la acción de la tirosina hidroxilasa se convierte en 3,4-dihidroxifenilalanina (DOPA), que produce dopamina por descarboxilación. La norepinefrina se forma a partir de la dopamina por acción de la dopamina- β -hidroxilasa.



Síntesis de aminas neurotransmisoras en la neurona presináptica.

Se ha observado que la fenilalanina inhibe la tirosinohidroxilasa, el fenilpiruvato a la dopa-descarboxilasa y el producto de la condensación de la dopamina con el fenilpiruvato inhibe a la dopamina- β -hidroxilasa. Por otra parte, la fenilalanina inhibe marcadamente el transporte de tirosina a través de la membrana presináptica, lo que puede constituir la causa más probable de la disminución de estas aminas en la fenilcetonuria.

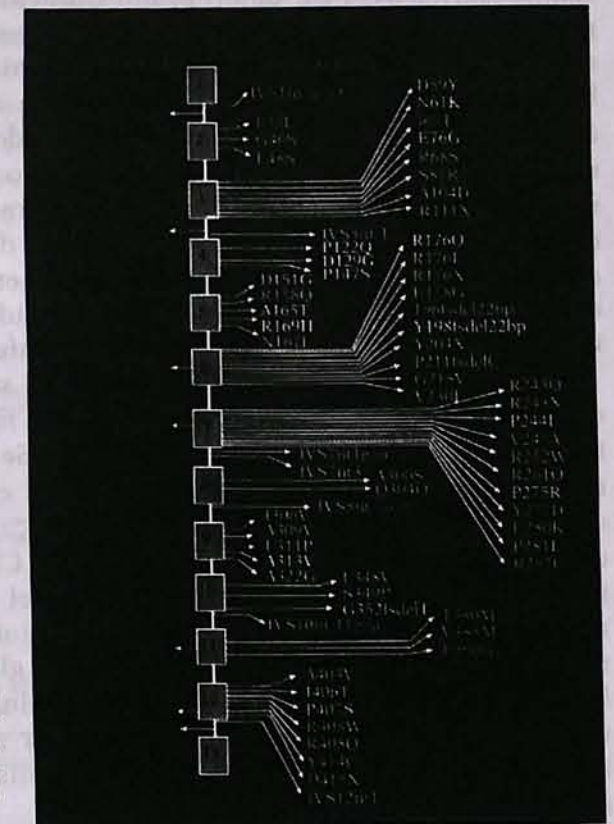
De modo similar, el triptófano se transforma en el cerebro en 5-hidroxitriptófano por la acción de la triptófano-hidroxilasa, produciendo por descarboxilación la monoamina neurotransmisora serotonina (5-hidroxitriptamina). Su transporte a través de la membrana, mediado por sodio, es igualmente inhibido por fenilalanina.

En el caso de la fenilcetonuria, estas alteraciones podrían contribuir a explicar los síntomas neurológicos y de conducta, que en la mayoría de los casos son irreversibles. Sin embargo, en las hiperfenil-alaninemias malignas, como la tetrahydrobiopterina es también coenzima de la tirosina hidroxilasa y de la triptófano hidroxilasa, el déficit en el coenzima origina una disminución de las concentraciones de dopamina y serotonina que persiste incluso cuando se somete al paciente a una ingesta con el contenido de fenilalanina muy reducido.

En 1998, Magdalena Ugarte y su equipo han merecido el Premio de la Real Academia de Farmacia por su trabajo: «Fenilcetonuria, 30 años de investigación y prevención» (17). Después de casi un millón de muestras analizadas, se han estudiado genotípicamente más de 200 casos y se han identificado 67 mutaciones diferentes en el gen de la fenilalaninohidroxilasa.

Actualmente se conocen casi 400 mutaciones causantes de fenilcetonuria, muchas de ellas estudiadas, asimismo, a escala funcional.

Representación esquemática del gen de la PAH y localización de las mutaciones y polimorfismos detectados en España. En blanco las mutaciones nuevas.



La mayoría de las mutaciones afectan tanto el ensamblaje como la actividad hidroxilante de la enzima (18). La sustitución de serina por leucina en el residuo 349, que rodea el centro activo de la enzima, afecta el enlace -H con la histidina 285 y, por tanto, la coordinación con el hierro, esencial para el mantenimiento de la estructura terciaria de la proteína. El estudio de mutaciones en fenilcetonuria ha abierto la posibilidad de realizar diagnóstico prenatal, antes impracticable, al expresarse el gen sólo en hígado, y ha facilitado el diagnóstico de portadores, que se hacía mediante pruebas de sobrecarga de fenilalanina.

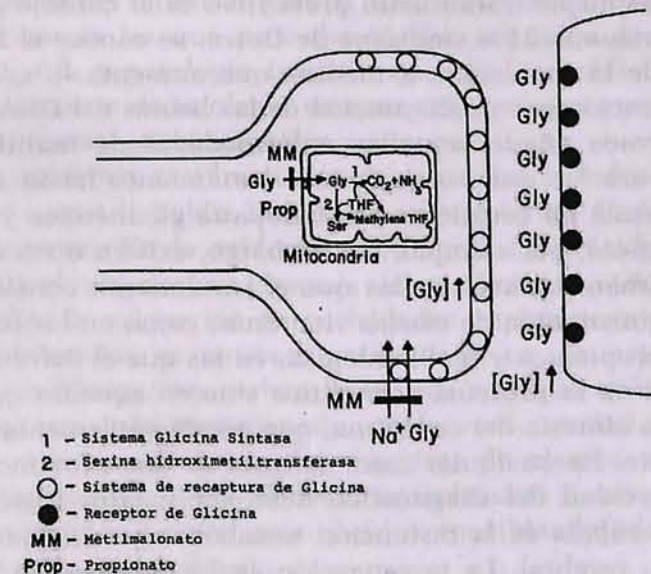
Hiperglicinemia

Descrita por vez primera como error congénito del metabolismo en 1961, diez años más tarde se identificó la enzimopatía causal: la deficiencia de la propionil-CoA-carboxilasa (acidemia propiónica). Más tarde se describieron otros errores congénitos del metabolismo de aminoácidos que se manifestaban igualmente con hiperglicinemia y cetosis. Además de la acidemia propiónica, la acidemia metilmalónica, debida al fallo de la enzima metil-malonil-CoA-mutasa, era la más frecuente. Lo que al principio se denominó «hiperglicinemias cetósicas» se trataba en realidad de acidemias orgánicas, y se las designa hoy de acuerdo con el ácido acumulado. Sin embargo, las hiperglicinemias no cetósicas o encefalopatías glicinélicas se fueron considerando como un grupo importante, aunque heterogéneo, de enfermedades.

La cantidad de glicina se encuentra muy elevada en líquido cefaloraquídeo, mientras que los niveles plasmáticos sólo aumentan 2 a 3 veces los valores normales. Se vió que se debía a la ausencia total de actividad glicinasintasa en el cerebro de los pacientes, mientras que la actividad hepática no se alteraba. La glicinasintasa descompone a la glicina en CO₂, NH₃ y metilén.tetrahydrofolato. En otros casos -como el estudiado a fondo en nuestro departamento (19)- la actividad sintetásica es normal, pero existe un defecto en el transporte de la glicina, lo que explicaría la hiperglicinemia en líquido cerebroespinal. El daño metabólico es parecido, por lo que se intentó explicar por el papel central que la glicina desempeña como neurotransmisor inhibitor, especialmente en la médula espinal.

Los dos sistemas de mayor relieve en el metabolismo de la glicina en el sistema nervioso central, la glicina sintasa y la serina-hidroximetil-transferasa, son de origen mitocondrial. La glicina entra en la mitocondria mediante un proceso que no requiere energía pero sí una proteína transportadora. Según investigaciones realizadas asimismo en el Centro de Biología Molecular, el propionato y el metilmalonato resultan ser inhibidores del transporte de la glicina a través de la membrana mitocondrial. En sinaptosomas de médula espinal se ha descrito un sistema de alta y otro de baja afinidad para la entrada de glicina. El de alta afinidad parece estar implicado en la terminación del efecto postsináptico inhibitor de la glicina.

Se demostró que, a concentraciones parecidas a las halladas en líquido cefaloraquídeo en pacientes con aciduria metilmalónica, la inhibición alcanzaba porcentajes del 45%. Este efecto sobre la recaptura de glicina en la hendidura sináptica podría perturbar su función neurotransmisora, allí donde tiene que desempeñar su papel como inhibidor de la sinapsis glicinélica. En ratas con hiperglicinemia experimental, se demostró que la mayor sensibilidad a los altos niveles de glicina durante los diez primeros días de vida podía explicarse por la existencia de un «periodo vulnerable» en el desarrollo de las sinapsis glicinélicas similar al propuesto por Dobbing (20) para el periodo de mielinización.



Galactosemia

Es una enfermedad en la que existe incapacidad de origen genético para metabolizar el componente más normal de la ingesta postnatal: la leche, y concretamente la galactosa del azúcar lactosa que contiene. Teresa Banlloch Marín (21) ha descrito con detalle las alteraciones hereditarias del metabolismo de la galactosa y la fructosa.

• DIAGNÓSTICO PRECOZ Y PREVENCIÓN

Como sucede en cualquier fenómeno, social, medioambiental, clínico –es necesario aplicar el tratamiento *a tiempo*, antes de que se produzca la alteración que se pretende evitar, particularmente cuando se trata de situaciones irreversibles. En varias ocasiones, me he referido la necesidad de actuar a tiempo, para conseguir detener el proceso en etapas previas al «punto de no retorno» (ética del tiempo, 22).

En el caso de las metabolopatías de manifestación postnatal – puesto que la madre ha suplido las deficiencias antes del nacimiento– el diagnóstico precoz debe realizarse inmediatamente después del nacimiento. Cuando el daño irreversible se produce durante la gestación, el mejor tratamiento preventivo es el consejo genético. Así, en la trisomía 21 o síndrome de Down, se conoce el fuerte incremento de la incidencia a medida que aumenta la edad de la madre (alteración por no disyunción de las hebras del DNA del ovocito). Debemos añadir aquellas enfermedades de manifestación postnatal para las que no se conoce tratamiento hasta ahora: la hiperglicinemia no cetósica o encefalopatía glicinéica y algunas acidosis lácticas, por ejemplo. Sin embargo, existen otras enfermedades igualmente graves en las que el tratamiento consiste en la simple administración de ciertas vitaminas, como en las formas de acidemias propiónica y metilmalónica, en las que el defecto congénito no está en la proteína enzimática sino en aquellas que intervienen en la síntesis del coenzima, que puede suplementarse terapéuticamente. En cualquier caso, se trata de una proteinopatía.

La precocidad del diagnóstico debe ser mayor, lógicamente, cuanto más rápida es la disfunción metabólica y su incidencia en el desarrollo cerebral. La investigación en las familias de los afec-

tados permite prevenir casos de esta naturaleza en futuros descendientes: en la «enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce» –aminoacidopatía de evolución muy rápida con deterioro neurológico inmediato, que se presenta en 1 de cada 40.000 niños recién nacidos en España (23)– deberá practicarse el diagnóstico justo en el momento del nacimiento, antes de que aparezcan los primeros síntomas. En este y otros casos similares, es aconsejable realizar ensayos prenatales, para asegurar el éxito de las medidas preventivas en cuanto el feto abandona el claustro materno.

La metodología para la selección masiva y la organización de la recogida de muestras y pruebas de confirmación correspondientes, se ha descrito con detalle por Magdalena Urgarte (12). Incluye, cuando procede, la determinación cuantitativa de aminoácidos y de ácidos orgánicos. Se ha conseguido que no medien más de 5 días entre la detección y el comienzo del tratamiento.

El seguimiento clínico de los casos registrados se realiza en los servicios de pediatría, algunos de los cuales han adquirido una considerable experiencia en los últimos años. Los fibroblastos humanos cultivados a partir de biopsias de piel constituyen un material biológico de gran utilidad para el diagnóstico e investigación de metabolopatías, tanto para la identificación del defecto bioquímico en homocigotos, como para desvelar la condición de heterocigotidad en sus familias.

Además de las muestras para la selección masiva, deben tenerse, pues, en cuenta las que proceden de los servicios de neonatología, pediatría y patología infantil, cuando los médicos detectan síntomas clínicos de etiología desconocida que no corresponden a los tratamientos convencionales.

En la acidemia metilmalónica destacan las grandes concentraciones en orina de ácido 3-hidroxi-n-valérico y de ácido 2-metil-3-hidroxi-butírico. En la acidemia propiónica es el ácido 3-hidroxi-propiónico el que destaca después del metilcitrato. Además de los metabolitos, la valoración de actividades enzimáticas permite detectar deficiencias en piruvato carboxilasa, en piruvato deshidrogenasa y ornitina transcarbamilasa, por citar las más importantes. Como ya se ha mencionado, en la «enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce», las muestras de plasma y orina presentan una gran elevación de leucina, isoleucina y valina, así como de los correspondientes α -cetoácidos (posible deficiencia de la α -cetoácido descarboxilasa).

Ya se ha subrayado que la fenilcetonuria es, con mucha diferencia, la metabopatía de manifestación postnatal más frecuente, seguida de la cistinuria, la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, las acidosis lácticas, la acidemia metilmalónica, la acidemia propiónica, la alcaptonuria, la cistinuria, la hiperglicinemia no cetósica, la hiperglicosuria, la tirosinemia...

• TRATAMIENTO

A grandes rasgos, puede clasificarse como sigue:

1) Por el producto acumulado, regulando la funcionalidad de los sistemas carenciales mediante la administración de «correctores» dietéticos o medicamentosos. Es el caso de la fenilcetonuria y del hipotiroidismo.

2) Por el origen:

i) Consejo genético

ii) Estudio familiar (heterocigotos)

iii) Terapia génica y «corrección genética»

E.P.Treacy, D.Valle y Ch.R.Scriver han presentado un excelente capítulo sobre tratamiento de enfermedades genéticas en el libro «The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Diseases» (24). El *Homo Sapiens*, escriben, es la única especie capaz de alterar intencionadamente lo que ocurre, modificando en consecuencia la selección natural de sí misma. El *Homo Sapiens* como tal es *Homo Modificans* y de este modo cambiamos el curso normal de los fenómenos para mantener la salud. ¿No ha sido así como se ha logrado que pacientes con Diabetes Mellitus tipo I con un tratamiento bien regulado y un seguimiento muy riguroso hayan podido vivir muchos años y evitar las complicaciones (fallo renal, retinopatía, etc) que acompañaban a la enfermedad?. El caso de la fenilcetonuria –que trataré luego con algún detalle– es otro buen ejemplo.

El conocimiento detallado de la patogénesis de una enfermedad genética ha permitido avances significativos. Por citar sólo unos casos:

– El tratamiento de la Hipercolesterolemia familiar ha mejorado muchísimo con estatinas y resinas captadoras de ácidos biliares, que se aplicaron en cuanto se conoció la deficiencia en receptores de lipoproteínas de baja densidad (LDL).

–El tratamiento de la Tirosinemia hereditaria tipo I mediante dietas en fenilalanina y tirosina no dio los resultados esperados hasta que, al profundizarse en las raíces de la afección, se pudieron inhibir las reacciones del sistema tirosina-4-hidro-fenilpiruvato-dioxigenasa-con un producto de síntesis, el NTBC (2-(2-nitro-4-trifluorometilbenzoil)-1.3-ciclohexanodiona).

Los tratamientos se basan en disminuir los sustratos tóxicos, reemplazar los productos o proteínas (enzimas) deficientes, suplementar coenzimas, activar enzimas mutantes «durmientes», etc. Simultáneamente con el conocimiento más profundo de las disfunciones ha tenido lugar un notable desarrollo de la investigación farmacéutica (química combinatoria, diseño de sustancias medicamentosas, etc) hasta el punto de perfilarse, recientemente, la farmacogenética, tratamiento «personalizado», adaptado al perfil biológico del paciente.

El objetivo de todo tratamiento es reestablecer la homeostasis química y fisiológica. Para ello tiene que poder acceder al lugar celular donde se ejerce su efecto. Cuando el fenotipo desviado se expresa prenatalmente o en un sitio de homeostasis celular al que no alcanza a entrar el agente terapéutico– los lisosomas neuronales en el feto de los afectos de la enfermedad de Tay-Sachs– el tratamiento no es efectivo. Lo mismo sucede cuando se trata de fenotipos que afectan sistemas metabólicos altamente adaptados, tales como la glicólisis o el metabolismo energético (buena prueba de ello es el escaso resultado obtenido en los desórdenes graves del metabolismo del lactato o la biosíntesis de gangliósidos).

Del casi medio millar de enfermedades genéticas conocidas en la actualidad, el 12% (46 afecciones) responden completamente a la terapia (por ejemplo, la deficiencia en biotidinasas) ; el 54% (más de 200 enfermedades) mejoran parcialmente (como en el caso de las alteraciones del ciclo de la urea) y el 34% (126 casos) no dan prácticamente respuesta (por ejemplo, la mayoría de las enfermedades lisosómicas).

Como en todas las patologías, el tratamiento de las alteraciones genéticas requiere un diagnóstico preciso, una administración a tiempo y el conocimiento íntimo de la patogénesis de la afección.

Pueden resumirse como sigue los distintos tratamientos:

1. **A escala del fenotipo clínico:** se trata de prácticas habituales de «mejora del entorno higiénico y sanitario». Así, por ejem-

plo, es obvio que las que evitan la exposición a los rayos ultravioleta de los pacientes de las diversas variantes de albinismo y dermatitis pigmentosa constituyen medidas de tratamiento adecuadas.

A escala del metabolito: el funcionamiento deficiente de una enzima mutada puede causar una alteración patológica del fenotipo por acúmulo del sustrato hasta alcanzar concentraciones tóxicas, por la producción de un metabolito alternativo en cantidades no habituales, por la formación reducida de un metabolito de un determinado proceso o por una mezcla de estas situaciones. En estos casos, el tratamiento puede basarse en:

a) *Restricción del sustrato:* es el caso de las dietas pobres en fenilalanina en el caso de las fenilcetonurias. Así mismo, un pronto tratamiento de la galactosemia (por deficiencia de transferasa) sustituyendo la ingesta láctea, reduce la mortalidad infantil y mejora muy sustancialmente el desarrollo cognitivo.

b) *Favorecer pasos alternativos para eliminar metabolitos tóxicos:* un buen ejemplo es la administración de benzoato, fenilbutirato o fenilacetato a pacientes con errores congénitos de la ureogénesis. El benzoato y el fenilactato (el fenilbutirato se convierte en fenilacetato) se conjugan con la glicina y la glutamina, respectivamente, formando hipurato y fenilacetilglutamina, que se eliminan rápidamente por la orina, con un contenido en nitrógeno mayor que sus precursores y, por tanto, constituyen una forma de eliminación de exceso de nitrógeno. Utilizada conjuntamente con una dieta pobre en proteínas, esta terapia reduce el acúmulo de la sustancia tóxica, el ión amonio.

c) *Inhibidores metabólicos:* en algunas alteraciones, la toxicidad puede reducirse inhibiendo algunas de las reacciones que conducen a la sustancia cuyo acúmulo es nocivo. Es cierto que este tratamiento puede incrementar, por «reflujo» la concentración de otros metabolitos. Pero si son menos peligrosos para el organismo, vale la pena su administración. Así, el allopurinol se utiliza para inhibir la xantina oxidasa en la gota y otras anomalías caracterizadas por la excesiva degradación de las purinas, con acúmulo de ácido úrico. Al inhibir la enzima y reducir el ácido úrico, se disminuye el riesgo de nefropatías y de la artritis gotosa. La xantina se acumula pero, al ser más soluble, es mejor tolerada.

d) *Reemplazar un producto deficiente:* puede hacerse por dietas apropiadas o tratamientos farmacológicos. Así, la deficiente producción de glucosa hepática en pacientes con glucogenosis tipo

Ia puede contrarestarse mediante ingesta muy frecuente de glucosa o de polímeros sencillos.

Un ejemplo característico de este tipo de tratamiento es la administración de hormona tiroidea (con triyodotironina) en casos de hipotiroidismo congénito, relativamente frecuente en España.

2. **A escala de la proteína alterada,** mediante la activación de la enzima mutante o reemplazamiento del producto normal de su acción.

a) *Activación de enzimas deficientes con cofactores vitamínicos:* las apoproteínas que dependen de la presencia de los coenzimas para su plena funcionalidad responderán mejor a la administración farmacológica de dichos coenzimas o de sus precursores cuando las reacciones afectadas son, precisamente, las que conducen a la síntesis del cofactor activo o cuando la menor afinidad resultante de una mutación en el apoenzima puede compensarse con una mayor concentración de coenzima. Por ejemplo, un tercio de los casos de homocistinuria producida por la deficiencia de cistationina-â-sintasa recupera una parte significativa de su actividad cuando se administran dosis relativamente altas de vitamina B6 (50-500 miligramos de piridoxina al día).

En otros casos, las mutaciones afectan la capacidad de unión del cofactor. Es el caso de la ornitina aminoácido-transferasa o de la piruvato-dehidrogenasa. En una de las variantes de la enfermedad de la orina con olor a jarabe de arce, en la que las subunidades á de la deshidrogenasa que contienen la secuencia que une a la tiamina pirofosfato se halla alterada, la administración de vitamina B1 mejora la sintomatología de la deficiencia.

b) *Terapias de reemplazamiento proteico:* constituyen un gran objetivo, pero hasta ahora sólo dan cuenta del 1 % de los tratamientos efectivos disponibles. Es evidente que es mucho más fácil obtener un buen resultado cuando la deficiencia se localiza en el espacio extracelular (tracto gastrointestinal o plasma). La incorporación de enzimas exógenas a los lisosomas es posible gracias a la fusión de orgánulos. El fenotipo de la enfermedad de Gaucher (variante no-neuropática) se alivia considerablemente con la administración de glucocerebrosidasa dirigida a los lisosomas de los macrófagos, que poseen un receptor específico: el receptor manosa-N-acetilglucosamina. Tratamientos clásicos de este capítulo son el suministro de la hormona humana del crecimiento, del factor VIII para los casos de hemofilia A, etc.

Un enfoque innovador que logra superar los obstáculos de «reconocimiento inmune» es el que ha sido utilizado en el tratamiento de la inmunodeficiencia severa producida por la mutación de la adenosina desaminasa. La enzima bovina severa purificada y unida al polietilén-glicol (PEG) se administra por inyección intramuscular. Las moléculas hidrofílicas del PEG recubren la superficie de la enzima, «disfrazándola» de tal modo que no es reconocible por los sistemas inmunitarios. Con una administración semanal se ha mejorado mucho la patología de esta importante alteración congénita.

Otro caso: la enfermedad de Pompe es una disfunción gravísima del músculo estriado causada por la deficiencia en á-glicosidasa, enzima lisosómica que degrada al glucógeno. La administración de la enzima recombinante humana mejora espectacularmente los síntomas clínicos y corrige la acumulación de glucógeno en el corazón. Es probable –lo que es muy alentador– que la enzima recombinante entre en las células musculares por la endocitosis mediada por manosa-6-fosfato.

3. **Transplante de órganos:** los trasplantes de órganos (o implantación de células) se sitúan en la frontera entre la terapia de reemplazamiento directo de una proteína y la terapia genética. Se consigue de este modo que se suministre la proteína «normal» de la que carece el paciente. Los trasplantes de riñón, médula e hígado se han practicado en diversas enfermedades genéticas, gracias al desarrollo de inmunodepresores específicos, tales como la ciclosporina. En el caso de las dolencias que cursan con afección neurológica – mucopolisacaridosis, por ejemplo– el gran desafío sigue siendo el acceso de las enzimas procedentes de los trasplantes al sistema nervioso central, altamente «protegido».

La terapia celular implica emplazar un número suficiente de células o células madre en un órgano dado, para reestablecer la funcionalidad de los tejidos inoperantes. Los más utilizados hasta ahora han sido los hepatocitos y las células endoteliales y del músculo esquelético.

4. **Terapia genética (somática).** Pueden distinguirse tres enfoques:

- *Ex vivo*, cuando las células se extraen del cuerpo, se incuban con un vector y una vez «restauradas» por ingeniería genética, se reincorporan en el lugar apropiado.

- *In situ*, cuando el vector se sitúa directamente en los tejidos afectados; y

- *In vivo*, cuando el vector se inyecta en el torrente sanguíneo.

Estos tratamientos se iniciaron con vectores retrovirales, utilizándose en la actualidad, así mismo, vectores basados en adenovirus, virus de herpes ... y vectores no virales, tales como los liposomas. La aplicación de vectores adenovirales pretratados para eliminar la gran mayoría de las secuencias patógenas ha proporcionado resultados muy prometedores (toxicidad muy pequeña y expresión durante varios meses).

5. **Estrategias de terapia génica:** pueden distinguirse como mínimo tres estrategias para la regulación de la expresión de DNA terapéutico.

- Puede emplearse un cDNA controlado por un promotor exógeno, de tal modo que el producto es sintetizado en mayor proporción, pero sin la regulación normal;

- Puede utilizarse el DNA genómico incluyendo las secuencias apropiadas para la regulación de la producción y de la especificidad tisular de expresión del gen terapéutico; y

- Pueden usarse «minigenes» artificiales que unen las regiones genómicas reguladoras con el cDNA que codifica el conjunto de la «lectura» o expresión apetecida.

No hay duda de que la mejor estrategia se basaría en el uso de recombinación «dirigida» específicamente, de tal forma que la región del gen que contiene la mutación se reemplace por la secuencia normal de DNA.

La terapia génica ha dado resultados alentadores en ensayos con animales de experimentación en enfermedades tan graves como la deficiencia de ornitina transcarbamilasa, en la enfermedad de Gaucher, en alteraciones lisosómicas, etc.

Es un amplísimo panorama, lleno de expectativas. A medida que se transite desde la genómica estructural a la genómica funcional, el enfoque principal irá pasando desde el DNA a las proteínas.

En el caso de enfermedades hereditarias ligadas al sexo, se puede separar una de las cuatro células de un ovocito obtenido por fecundación in vitro y, una vez comprobado el sexo, implantar solamente las femeninas y evitar un hijo gravemente enfermo.

Se han descrito recientemente, por un importante grupo del Chicago Reproductive Genetics Institute, casos de diagnóstico por preimplantación genética (PGD) que permiten eliminar del ovocito los genes mutados que pueden conducir a la aparición de la

variante presenil de la enfermedad de Alzheimer. Por cuidadosa separación de los «cuerpos polares» que contienen los genes alterados durante la maduración del ovocito, es posible su fertilización «in vitro» y su reimplantación en el útero materno cuando se ha comprobado que el «núcleo del ovocito» carece de mutantes patogénicas. Esta misma técnica se está ensayando en la fibrosis quística y en la anemia falciforme.

Este procedimiento plantea, una vez más, contar con eminentes Consejos de Bioética, donde con gran rigor científico y poniendo siempre por encima de cualquier otra consideración la dignidad de la persona humana, se eviten aplicaciones que tengan otras finalidades «selectivas» que las hasta ahora descritas, aunque en estos casos no se altere la secuencia genética y, por tanto, no se afecte la unicidad propia del patrimonio genético del nuevo ser.

• METABOLOPATÍAS ADQUIRIDAS

Como antes indicaba, pronto se puso de manifiesto que un alto porcentaje de los casos de subnormalidad infantil no podían explicarse en base a alteraciones genéticas. Esta fue la razón para la que se iniciaran estudios sobre la evolución normal y posibles alteraciones en el momento crucial del nacimiento –sobre todo el acceso de oxígeno al cerebro– así como aquellas alteraciones que podrían derivarse del comportamiento y hábitos de la madre, especialmente en el periodo embriogénico (alcoholemia fetal, etc.). La bioquímica perinatal constituyó pronto una disciplina, desarrollada principalmente en nuestro Departamento por D. José M^a Medina y colaboradores. Pronto dio lugar a un curso interuniversitario, que desde hace 27 años se desarrolla en la Fundación Ramón Areces, dirigido por Emilio Herrera Castrillón (25, 26).

Buena parte de los estudios que realizamos en la década de los 80 se referían a la hipoxia-anoxia en el momento del parto. Era particularmente importante dilucidar por qué, en ocasiones, un breve periodo hipóxico tenía un efecto tan grave y, en otros casos, un periodo más prolongado no afectaba prácticamente las capacidades neuromotoras del neonato. Demostramos (27) la relación que existe entre la anoxia neonatal y la elevación de los niveles de bilirrubina en el cerebro, cuyo efecto neurotóxico –al unirse con componentes de las membranas de las células cerebra-

les– explica, según la localización de la hemorragia, la mayor o menor intensidad del impacto.

ALTERACIONES NO GENÉTICAS QUE PRODUCEN GRAVE DETERIORO MENTAL

Un número considerable de niños presentaban afecciones mentales irreversibles que no eran imputables a alteraciones genéticas. Eran el resultado, sobre todo, de partos distócicos, que tenían lugar en condiciones que no permitían la rápida identificación y corrección de las causas. Como ya he apuntado, me interesó muchísimo la contradicción que representaba que breves periodos de anoxia tuvieran a veces una gran repercusión patológica, mientras que, en otros casos, periodos más largos tenían una incidencia neurológica y motora muy leve.

Hiperbilirrubinemia

La bilirrubina es un metabolito que procede de la degradación, del grupo hemo, núcleo prostético de numerosas proteínas, de las que la hemoglobina es la más importante. A pesar de tratarse de un metabolito normal, existen unas series de alteraciones que, en el periodo neonatal, pueden dar lugar a daños neurológicos irreversibles, como consecuencia de su acumulación en el cerebro. Las encefalopatías bilirrubínicas cursan con parálisis cerebral y distintos grados de retraso mental. La posibilidad de que el deterioro ocasionado dependiera de la localización cerebral –más o menos vulnerable– en la que se produce el edema bilirrubínico como consecuencia de un periodo de hipoxia o de anoxia, motivó una serie de investigaciones que permitieron contribuir a la elucidación de los mecanismos de neurotoxicidad (28, 29) y propició, junto con otras líneas desarrolladas en nuestro Departamento, a la creación –ya indicada– de la disciplina de bioquímica perinatal.

Los daños neurológicos consecuencia de la hipoxia-anoxia neonatal tienen una distribución y unas manifestaciones semejantes a las encontradas en las encefalopatías bilirrubínicas. Sobre esta base, trabajamos con un modelo experimental que permite establecer una relación entre la falta o deficiencia de

oxígeno en el momento del parto y la aparición de bilirrubina en el cerebro, con un impacto de mayor o menor gravedad según la localización. El hecho de que el efecto de la bilirrubina no se detecte en animales de mielinización prenatal que se caracterizan por una considerable autonomía en el momento del nacimiento y, sobre todo, la constatación de que la anoxia y el acúmulo de bilirrubina en los niños ya mielinizados no presentan efectos neurotóxicos irreversibles, aunque se produzcan hemorragias intracraneales, favorecía desde el principio la hipótesis de una interferencia de la bilirrubina en los mecanismos mielogénicos de protección neuronal.

Los resultados alcanzados constituyeron una importante contribución al mejor conocimiento de la etiología de las encefalopatías bilirrubínicas y de los daños neurológicos causados por asfixia perinatal. El estudio en profundidad de la relación anoxia-niveles de bilirrubina, especialmente en el caso de los prematuros, ha permitido el esclarecimiento de algunas facetas de la compleja -y, desgraciadamente, frecuente- afección de la parálisis cerebral y otras disfunciones neonatales irreversibles, al poner de manifiesto mecanismos propios de la mielinización, sinaptogénesis y otros procesos de desarrollo y funcionalidad cerebral.

En 1977, siendo asesor del Presidente del Gobierno, D. Adolfo Suárez, se decidió destinar un considerable porcentaje de los recién autorizados juegos de azar a la prevención de la subnormalidad infantil y, particularmente, a la adecuada dotación, en todas las maternidades, de los sistemas de seguimiento de la normal oxigenación materno-fetal en el crucial momento del nacimiento.

5. PROYECTOS DE AYER, REALIDADES DE HOY

• PERSPECTIVAS: MEDICINA PREDICTIVA Y FARMACOGENÉTICA

En la medicina del futuro se abordarán grados progresivamente más complejos de integración: macromoléculas, compartimentos celulares, células, órganos en desarrollo y organismos en su conjunto. Todos ellos interactúan tanto internamente, dentro del cuerpo como, externamente, con el medio ambiente. Interacción interna, interacción del organismo en su conjunto con el entorno externo: es en esta visión molecular integrada de la vida donde se

sitúan la salud y la enfermedad y, por tanto, la forma de conservar la primera y de hacer frente a la segunda.

La terapia del futuro seguirá moviéndose en el escenario habitual: diagnóstico-tratamiento-ajustes, pero, a medida que sea más personalizada, la medicina recurrirá progresivamente a la información genética y procurará el mejor conocimiento de la influencia recíproca que tiene lugar entre fenotipos, variación genética y efectos medioambientales.

Un tema muy importante a considerar desde un punto de vista sanitario y preventivo es la «pirámide poblacional» que se está invirtiendo de forma muy alarmante y modificando los supuestos tradicionales. En 1962, el número de hijos por mujer era de 3,5; en 1980 de 2,2 y en 1991 de 1,3. Ahora, 1,04 cuando la tasa de reemplazamiento se sitúa en 2,1. La geriatría, en el otro cabo, se ve sobrepasada por un porcentaje de personas «mayores» que, con una longevidad creciente, contribuyen al impacto social, económico, laboral, educativo y cultural de este cambio fundamental.

• ASPECTOS ÉTICOS

Los progresos en capacidad diagnóstica y terapéutica que en esta revisión se han abordado plantean, en algunos aspectos, cuestiones éticas fundamentales. Desde el origen de los tiempos la humanidad ha discurrido al filo de lo factible y lo admisible. A medida que se ha podido profundizar más, hasta las mismas raíces de los fenómenos biológicos, la «prudencia» ética debe ser mayor, y garantizada permanentemente por los Consejos interdisciplinarios adecuados. El conocimiento es siempre positivo. La aplicación puede no serlo. Puede ser, incluso, perversa. En el caso del genoma humano, promoví, en 1991, en consulta con la Human Genome Organization (HUGO), la constitución, bajo los auspicios de la UNESCO, de un Comité Mundial de Bioética. Magistralmente dirigido por la jurista francesa Noëlle Lenoir, la Conferencia General de la UNESCO aprobó por unanimidad, en noviembre de 1997, la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos. Un año más tarde, era ratificada, igualmente por unanimidad, por la Asamblea General de las Naciones Unidas.

Los cuatro primeros artículos se refieren a la «dignidad humana y el genoma humano»; del 5 al 9, a los «derechos de las personas

interesadas»; los artículos 10-12 a «investigaciones sobre el genoma humano», en cuyo artículo 11 se establece: «No deben permitirse las prácticas que sean contrarias a la dignidad humana, como la clonación con fines de reproducción de seres humanos. Se invita a los estados y a las organizaciones internacionales competentes a que cooperen para identificar estas prácticas y a que adopten en el plano nacional o internacional las medidas que corresponda, para asegurarse de que se respetan los principios enunciados en la presente declaración». Los artículos 13 al 16 se refieren a las «condiciones de ejercicio de la actividad científica; a la solidaridad y cooperación internacional», los artículos 17 al 19 y, los últimos, del 20 al 25, al fomento de los principios de la declaración y aplicación de la misma.

En ausencia de códigos de conducta a escala mundial, a la espera de que se confiara a las Naciones Unidas el respaldo y los medios humanos y financieros que se requieren, el único camino consiste en la incorporación de estas resoluciones, fruto del acuerdo sin fisuras de la comunidad científica mundial y de los representantes gubernamentales, a la normativa jurídica nacional.



Decía al principio: «Formas sin fin. Formas fisiológicas y formas patológicas. Formas reversibles y formas irreversibles. La salud y la enfermedad son el reflejo de estas formas sin fin». He procurado demostrar en esta presentación que la frase que escribió Charles Darwin en su cuaderno de notas en las islas Galápagos, fascinado por la diversidad de la apariencia externa de las aves y en particular de los pájaros pinzones, «Life is endless forms» —la vida en formas sin fin— era, sin saberlo el propio autor, la clave del fenotipo y del funcionamiento de todos los seres vivos. Si con una veintena de letras del abecedario pueden escribirse miles de palabras y con ellas todos los poemas imaginables, del mismo modo sucede con las «letras biológicas», articuladas por complementariedad en el espacio. La vida guardaba celosamente el secreto de su lenguaje. Hoy hemos podido descifrarlo, abriendo una inmensa ventana de esperanza en la permanente lucha contra la enfermedad.

Formas sin fin...

BIBLIOGRAFÍA

- 1) LOZANO TERUEL, José A., Coord.: «Aspectos Moleculares de las patologías metabólico-genéticas», *Fundación Ramón Areces* (1990).
- 2) DESVIAT, Lourdes R.; PÉREZ, Belén, y UGARTE, Magdalena: «Bases moleculares de las enfermedades metabólicas hereditarias» en *Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias* Sanjurjo y Bal de Llou, Eds. Ergon (2001).
- 3) CHILDS, B.; VALLE, D. y JIMÉNEZ-SÁNCHEZ, S.: «The Inborn error and Biochemical Individuality» *The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease*, Scriver, Beaudet, Sly and Valle, Eds. Mac Graw Hill (2001).
- 4) LUCAS J.J.; HERNÁNDEZ, F.; GOMEZ-RAMOS, P.; MORÁN, M.A.; HEN, R.; ÁVILA, J.: «Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice» *EMBO J.* 20:27-39 (2001).
- 5) BULLIDO, M.J.; ARTIGA, M.J.; RECUERO, M.; SASTRE, I.; GARCÍA, M.A.; ALDUDO, J.; LENDON, C.; HAN, S.W.; MORRIS, J.C.; FRANK, A.; VÁZQUEZ, J.; GOATE, A. y VALDIVIESO, F.: «A polymorphism in the transcriptional regulatory region of APOE associated with risk for Alzheimer's dementia» *Nature Genet.* 18, 69-71 (1998).
- 6) SEGOVIA DE ARANA, José M.: «Enfermedades Neurodegenerativas por proteopatías», en «*Enfermedades Neurodegenerativas*» Farmaindustria, Sección Científica, Madrid (2002).
- 7) MOLINA HEREDIA, Fernando P. y cols. «Site-directed mutagenesis of cytochrome C6 from *Anabaena* species Pcc7119» *J. Biol. Chem.* 274, 33565-70 (1999).
- 8) MOLINA HEREDIA, Fernando y cols. «A single arginyl residue in plastocyanin and in cytochrome C6 from the cyanomatesin *Anabaena* species Pcc7119 is required for efficient reductin of photosystem I.» *J. Biol. Chem.* 276, 601-605 (2001).
- 9) A. M. ARAGAY, M. MELLADO, J. M. R. FRADE, A. M. MARTÍN, M. C. JIMÉNEZ-SAINZ, C. MARTÍNEZ-A. & F. MAYOR, jr.: «MCP-1 induced CCR2B receptor desensitization mediated by the G protein-coupled receptor kinase 2» *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95:2985-2990 (1998).
- 10) S. SARNAGO, A. ELORZA & F. MAYOR, Jr.: «Agonist-dependent phosphorylation of the G protein-coupled receptor kinase 2 (GRK2) by src tyrosine kinase» *J. Biol. Chem.* 274:34411-34416 (1999).
- 11) PENELA, P.; ELORZA, A.; SARNAGO S. & F. MAYOR, jr.: « β -arrestin and c-Src-dependent degradation of G-protein-coupled receptor kinase 2» *EMBO J.* 20:5129-5138 (2001).
- 12) UGARTE, Magdalena: «Detección, prevención e investigación de la etiología molecular del retraso mental de metabolopatías congénitas» Premio Reina Sofía de Investigación en materia de prevención de la subnormalidad (1982).
- 13) VALDIVIESO, F. y MAYOR, F.: «Metabolismo del cerebro: desarrollo y alteraciones» *Manual de Psiquiatría* J.L.G. Rivera, A. Vela y J. Arana, Coords. Ed. Kerpus. Madrid (1980).
- 14) MAYOR, F.: «Metabolismo cerebral neonatal» *Real Acad. Med. Sevilla* (1976).

- 15) WILSON, J. G.: «Environment and Birth Defects» Academic Press, N. York (1970).
- 16) VALDIVIESO, F.; UGARTE, M.; MATÍES, M.; GIMÉNEZ, C. y MAYOR, F.: *J. Ment. Defic. Res* 21, 95-102 (1977).
- 17) PÉREZ GONZÁLEZ, Belén; RUIZ DESVIAT, Lourdes; MARTÍNEZ-PARDO, Mercedes; GARCÍA MUÑOZ, M.ª José, y UGARTE, Magdalena «Fenilcetonuria, 30 años de investigación y prevención», *Anal. Real Acad. Farm.* 65, 271-304 (1999).
- 18) A. GAMEZ, B. PÉREZ, M. UGARTE and L.R. DESVIAT: «Expression analysis of phenylketonuria mutations. Effect on folding and stability of the phenylalanine hydroxylase protein». *J. Biol. Chem.* (2000) 275:29737-29742.
- 19) MAYOR, jr., F.; A. MARTÍN, P.R. POMBO, M.J. GARCÍA, J. BENAVIDES and M. UGARTE: «Atypical non-ketotic hyperglycinemia with a defective glycine transport system in nervous tissue» *Neurochem. Pathol.* 2, 233-249 (1984).
- 20) DOBBING, J.: «Applied Neurochemistry» A.N. Davidson y J. Dobbing, Eds. Blackwell Science Pub. Oxford (1968).
- 21) BANLLOCH MARÍN, Teresa: «Alteraciones hereditarias en el metabolismo de galactosa y fructosa», en referencia 1.
- 22) MAYOR, F.: «Ethics of time» UNESCO/London (1992).
- 23) UGARTE, M.: «International Meeting on neonatal Screening» Tokyo (1982).
- 24) TREACY, E. P.; VALLE, D. y SCRIVER CH. R. «Treatment of genetic disease» en *Metabolic Basis of Inherited Disease*, Mc Graw Hill (2001).
- 25) J. M. MEDINA and J. QUERO, eds.: «Physiologic Basis of Perinatal Care» ERGON, S.A., Madrid, Spain (1993).
- 26) E. HERRERA, ed.: «Bioquímica Perinatal: Aspectos patológicos». Editorial CEURA. Madrid, (1988).
- 27) F. MAYOR, jr., M. PAGÉS, J. DíEZ-GUERRA, F. VALDIVIESO & F. MAYOR: «Effect of postnatal anoxia on bilirubin levels in rat brain» *Pediatr. Res.* 19: 231-236 (1985).
- 28) F. MAYOR, jr., J. DíEZ-GUERRA, F. VALDIVIESO & F. MAYOR: «Effect of bilirubin on the membrane potential of rat brain synaptosomes» *J. Neurochem.* 47, 363-369 (1986).
- 29) J. VÁZQUEZ, M. GARCÍA-CALVO, F. VALDIVIESO, F. MAYOR & F. MAYOR, jr.: «Interaction of bilirubin with the synaptosomal membrane» *J. Biol. Chem.* 263: 1255-1265 (1988).

**DISCURSO DE CONTESTACIÓN
POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO
EXCMO. SR. D. ÁNGEL SANTOS RUIZ**

DISCURSO DE CONTESTACIÓN
POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO
EXCMO. SR. D. FEDERICO MAYOR ZARAGOZA

Excmo. Sr. Presidente
Excmas. y Excmos. Sras. y Sres. Académicos
Señoras y Señores:

La dignidad académica no debe reducirse a una especie de último e inactivo entorchado dentro de un sector intelectual exclusivo. Mi recordado maestro Gregorio Marañón, que perteneció a cinco de las ocho Reales Academias del Instituto de España, explicaba la utilidad de las mismas como medio para que sus miembros intercambiasen conocimientos y, asimismo, vivencias varias constituyentes de la personalidad. Yo diría que el fruto de estas corporaciones del más alto rango cultural se puede medir, entre otras cosas, por la incorporación piramidal de hombres selectos. En consecuencia, esta Real Academia Nacional de Medicina procura recibir en su seno gente bien afamada, pero evita las celebridades. Se es célebre no tanto por lo que se hace sino por lo que uno habla; en cambio, la fama es el eco natural resultante de la ejecutoria relevante de la persona. La celebridad puede ser simplemente ruido, pero la fama denota una gran figura. Con merecida buena fama viene hoy Federico Mayor Zaragoza a ocupar oficialmente en esta noble institución académica el sillón número 35, que en su día perteneció a Rafael Cadórniga Carro, común, distinguido y dilecto amigo a quien aquí, en nombre de todos, y una vez más, dedico mi sincero y afectuoso recuerdo emocionado. En estos solemnes momentos, también debo recordar que el día 10 de julio de 1976 tuve el distinguido encargo que supuso pronunciar el discurso de contestación con motivo del ingreso, como académico de número, de Federico Mayor Zaragoza

en la Real Academia Nacional de Farmacia del Instituto de España. Hoy, un cuarto de siglo largo después, me cabe, de nuevo, el alto honor de recibirle en esta ilustre Real Academia Nacional de Medicina. Por supuesto, y me excuso por ello, en esta ocasión, obligadamente, tendré que eludir algunas cosas y repetir otras.

Hace más de cuatro décadas que conozco y trato a Federico Mayor Zaragoza y es excusado recalcar que intervengo con gran complacencia en este acto de recepción. Espero que en mis pocos comentarios no se imponga el rodeo; mis palabras serían vana empresa si sustituyese la realidad por estimaciones vacilantes o caprichosas. Tan variopinta y sólida personalidad requiere una estimación resistente a la simplicidad, a pesar de lo cual intentaré sistematizar su quehacer, pasado y actual. En general, las concepciones apriorísticas que puedo esbozar se desbordan y, al mismo tiempo, se entrecruzan. Me enfrento, repito, con una cuestión compleja y, por ello, insisto que la misión mía deberá ser, fundamentalmente, un «excursus», lo más breve posible, sobre la obra del recipiendario. Espero que se darán cuenta que no es labor mollar hacerlo con galanura. En consecuencia, he evitado en lo posible entrar en el laberinto inaugurado por Descartes que pretende demostrarlo todo, hasta lo evidente.

SOBRE EL CIENTÍFICO UNIVERSITARIO

Caben dos acepciones metafísicas del tiempo: una la duración de lo que cambia y otra la medida de los cambios. En ambas hay relación de cambio a tiempo. Donde nada cambia, el tiempo no tiene sentido, pero en el caso de Federico Mayor sí que lo tiene, ya que su vida ha supuesto un evolucionar hacia un incremento de su acervo científico y cultural. Y lo ha hecho con decisión, que es una fuerza innovadora y con ocurrencia, que es la suscitación de algo nuevo. Ello le ha conducido a trabajar en ambientes y escuelas científicas de otros países y especialmente en la del Premio Nobel Profesor Hans A. Krebs, en Oxford. Estos jalones en su formación integral han estimulado su capacidad creadora, con su anejo el anhelo de hacer y de transmitir. Tal adiestramiento foráneo no ha impedido la originalidad de su pensamiento, nunca paráfrasis de otros, dado que su manifestarse ofrece una clara entidad propia.

El realce ficticio suele brotar, cuando lo artificioso supera a la sencillez y hay afectación en lo expresado. Sin embargo, creo que no importa cierto énfasis, al referirme a Federico Mayor Zaragoza, puesto que ello supone una figura retórica que permite dar a entender más de lo que realmente se indica. Por otra parte, la razón, según la expresión pascaliana, sufre siempre la humillación de tener que explicarlo casi todo; pero queda el casi; ese «no sé qué, que queda murmurando, de San Juan de la Cruz. A tal respecto debo señalar que el Profesor Mayor Zaragoza ha realizado diferentes versiones de temas científicos para la *Mac Graw Hill Encyclopedia*. Ha traducido el *Vitamin Assay* de Strehescker y Henning y, como veremos, ha publicado diversos libros. Sus artículos y su actividad como conferenciante realmente ha sido desusada; hasta este momento ha pronunciado, en España y en el extranjero, numerosos discursos y conferencias de alto nivel, y ha organizado diversos ciclos de lecciones especiales. En Federico Mayor Zaragoza es de resaltar que, entre lo telúrico estable y lo circunstancial mudable, ha habido siempre una meta fija en su propensión a un destino eminentemente bioquímico: Licenciado y Doctor en Farmacia con Premio Extraordinario en los dos niveles; Becario; Ayudante Profesor adjunto de Bioquímica en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid; Catedrático de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada; Catedrático y Director del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid; Director del Centro de Biología Molecular y Presidente de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular.

Sus amplias capacidades han sido reconocidas a través de variadas distinciones, y entre ellas: Miembro de Honor de la Asociación de Antiguos Alumnos de la Facultad de Farmacia de Granada; Emblema de Oro y Colegiado de Honor de los Colegios Mayores de San Bartolomé y Santiago, Jesús María y de Loyola de Granada; Colegiado de Honor del Colegio de Farmacéuticos de Las Palmas, del de Granada y del Consejo General de Colegios Médicos; Miembro de Honor de la Asociación de la Prensa de Granada; Clavel de Oro de la ciudad de Motril; Olivo de Oro de la ciudad de Jaén; Medalla de Honor de la Fundación Rodríguez Acosta. Está en posesión de valiosas condecoraciones, tales como la Gran Cruz de Alfonso X el Sabio y la Gran Cruz de la Orden Civil de Sanidad. Es Doctor Honoris Causa por distintas Universidades nacio-

nales y extranjeras. A pesar de la variedad de sus cargo (más aparente que efectiva dada la complementariedad de los mismos) su eficacia es proverbial. Posee evidentes dotes de gobierno y manda basado en una autoridad impregnada de sencillez y afabilidad, con un *dolce stil nuovo*. A todo ello se une la previsión de eventuales dificultades y una firme prudencia y carisma para encontrar la solución justa. Aunque nunca titubeante o indeciso, sabe aconsejarse para considerar mejor las problemáticas y abrir horizontes. Su amor a la libertad equivale en él a una constante, fundamentalmente la de la conciencia, que ha vivido con delicadez extrema. No es de extrañar que tan singulares cualidades conlleve respuestas de aceptación mayoritarias, si bien, claro está, con el inevitable descuento ibérico de la envidia y de las celotipias. A riesgo de caer en lo tautológico, reitero que Federico Mayor se expresa siempre con claridad manifiesta. Dentro de su firme respeto al pensar del prójimo sabe obviar las presiones que pueden ser obstáculo para nobles fines. Es prudente cuando debe serlo y sabe callar, acorde con el Profeta Isaías: *Un silentio et in spe erit fortitudo vestra*, y también hablar a tiempo. De ahí que Federico Mayor sea autor de los ensayos que a continuación se reseñan: *Mañana siempre es tarde*; *La nueva página*; *La memoria del futuro*; *La paix demain* y *Los nudos gordianos*. Es coautor de dos libros: *Science and power* y *Unesco: Un ideal en acción*, y editor de *La lucha contra la enfermedad*, *Scientific Research and Social goals* y *Towards a New Development Model*. Es de resaltar en nuestro personaje que, además de sus lenguas maternas, español y catalán, habla y escribe fluidamente francés e inglés.

Todo lo antedicho le ha llevado a compatibilizar sus actividades profesoras e investigadora con distinguidos cargos oficiales como los que a renglón seguido se refieren: Director del Instituto de Ciencias del Hombre, Presidente Científico del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa, Presidente de la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica de la Presidencia del Gobierno de España. Promotor de las Cátedras de Bioquímica Perinatal y Patología Molecular. Como consecuencia de todo lo anterior forma parte de diversas Academias o Instituciones docentes y científicas españolas y extranjeras, entre las que destacan: Academia Rusa de Ciencias; Academia Nacional del Brasil; Academia China de Ciencias; *American Academy of Microbiology*; Academia Francesa de Farmacia; *Royal Society of Chemistry* del Reino Unido;

Biochemical Society del Reino Unido; *American Chemical Society*; Fundación Americana para el Progreso de las Ciencias; Organización Internacional de Investigación del Cerebro (IBRO); Centro de Roma; *Société de Chemie - Biologique*; *European Molecular Biology Organization*; *American Association for the Advancement of Science*; Sociedad Española de Ciencias Biológicas; Real Sociedad Española de Química y Sociedad de Bioquímica de Concepción de Chile.

ALGO DE UN QUEHACER FECUNDO

En la extensa producción científica de Federico Mayor se distinguen cuatro períodos: de 1956 a 1963, de 1963 a 1972, de 1972 a 1976 y de 1976 hasta la fecha.

De 1956 a 1963 realizó a nuestro lado, en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense de Madrid, investigaciones sobre la glutamato descarboxilasa y sobre el metabolismo de 4-aminobutirato en diversos orígenes, especialmente en los caracterizados por un metabolismo hipóxico; también trabajó sobre la glutamato deshidrogenasa y, al observar un distinto comportamiento, según la disponibilidad de oxígeno, abordó una serie de estudios sobre enzimas del ciclo tricarbóxico en condiciones de hipoxia.

De 1963 a 1972 continuó la labor investigadora, que había empezado en Madrid, en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada, la cual duró hasta 1967, en que sus absorbentes obligaciones de gobierno en el centro universitario le impidieron continuarla en las condiciones habituales. A pesar de ello, en 1968 puso a punto el diagnóstico precoz de enzimopatías que se hicieron obligatorias en la provincia granadina. Paralelamente investigó sobre la etiología de la fenilcetonuria, como ejemplo de causas promotoras en retraso mental, con modelos experimentales tales como ratas tratadas con inhibidores de la fenil-alanina-hidroxilasa. También encaminó un grupo de ensayos acerca de glucogénesis en el hígado perfundido, continuados en hepatocitos aislados. Junto a la gluconeogénesis hepática y renal, analizó además los cuerpos cetónicos especialmente en cerebro. De su notable gestión en Granada, al frente del Rectorado de la Universidad (1967-1972) quedan como elocuen-

tes testigos la Medalla de Oro de dicho centro universitario y el muy honroso nombramiento de Rector Honorario.

En etapas ulteriores, poco a poco y por diversas vías, fue adquiriendo dotación experimental para confluir en un tema de gran trascendencia: la bioquímica perinatal y, concretamente, el estudio bioquímico de las causas de retraso mental. Por ello, desde 1972 hasta 1976, su labor investigadora se dio principalmente en este campo y en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid. La marcha de las investigaciones siguió las líneas fundamentales relacionadas con la profundización en la etiología de la fenil-cetonuria y de la histidinemia con especial atención al conocimiento bioquímico de los fenómenos hipóxicos y del daño cerebral.

Desde 1976 hasta estos nuestros días el Profesor Mayor, a pesar de las dificultades de tiempo y lugar, ha seguido el desarrollo de ciertos temas, objeto de atención especial por sus colaboradores de los laboratorios de Madrid. Determinadas investigaciones llevadas a cabo se refieren el metabolismo cerebral durante el desarrollo. Tal es el caso del efecto glucogénico del lactato y de la hidroximetil-CoA reductasa. Otros trabajos tratan de la anoxia postnatal, de los niveles cerebrales de bilirrubina y de la acción del potencial de membrana de simptomomas del cerebro. El aporte más reciente atañe a la bilirrubina con el estudio de su interacción plasmática sineptosomal.

De manera paralela a la extensa y destacada labor experimental aludida ha estudiado, igualmente, otros temas, entre los que destacan los referentes a biogénesis de terpenos, bioquímica de la germinación y enzimas vegetales. El número de sus publicaciones especializadas en revistas científicas nacionales y extranjeras supone hasta ahora varios centenares.

Todo lo anteriormente expuesto está íntimamente ligado a la dirección y supervisión de más de cuarenta tesis doctorales y a su misión, bien cumplida, de investigador principal y promotor de proyectos de investigación. Y todo ello, a su vez, ha culminado en la formación de un elenco prestigioso de discípulos, bastantes de los cuales ocupan hoy cátedras universitarias de Bioquímica y puestos varios en el campo de la investigación concerniente al Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Su incesante labor científica y universitaria le ha llevado a asistir y a ser ponente en múltiples certámenes científicos nacionales e internaciona-

les. Prácticamente ha participado, desde 1958, con comunicaciones en todos los Congresos Internacionales de la *International Union of Biochemistry (IUB)*, *Federation European of Biochemical Societies (FEBS)* y *Journées Biochimiques Latines (J.B.L.)*. Ha sido miembro del Comité Nacional de la Unión Internacional de Bioquímica y *Senior Member* del *Trinity college* de Oxford. Es de subrayar, además, que no solamente ha tomado parte en reuniones científicas, sino organizador de las mismas: Congreso de la SEB en Granada, en 1967; Simposio Internacional sobre *Molecular Mechanisms of Antibiotic Action of Protein Synthesis and Membrane* en Granada, en 1970; *Conference on Prospects for Hereditary Metabolic Diseases Control*, en Granada en 1973, y el *International Symposium* en homenaje al Profesor Severo Ochoa en Barcelona y Madrid en 1975. Excusado decir que sus intercambios con muy distintos países han sido y son tan estrechos como fructíferos. En calidad de principal investigador ha disfrutado de *Grants* del *Agricultural Research Service* del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.

BREVE GLOSA DE SU DISCURRIR

Una faceta fundamental del *ego* de Federico Mayor es el manejo ágil de la pluma, basado en su gran bagaje intelectual y curiosidad multiforme que datan de siempre. Su vida ha supuesto un constante incremento de su acervo científico, cultural, técnico y social. Y lo ha llevado a cabo con decisión, que es una fuerza innovadora, y con ocurrencia, que es la suscitación de algo mejor. Prueba de ello son sus múltiples actuaciones como ponente, moderador y presentador en polifacéticas intervenciones públicas en España y en el extranjero. En efecto, el que es desde ahora nuestro nuevo compañero de Academia es un maestro del exponer, capaz de destacar matices y detalles, plenos de frescura, y quiebros inesperados. En sus relatos no hay esoterismo o fabulación convencional, sino un limpio ejercicio de inteligencia convertido en prosa colmada de interés.

Como sabemos, las disgresiones orales o escritas van desde las obras más deplorables a las más excelsas. La diferencia radica en que la banalidad de las primeras ofrece escaso interés, mientras que la maestría de las segundas supone tanto que a los exégetas

todo les parece poco para apurar su análisis. El tema planteado por Federico Mayor Zaragoza en su discurso de ingreso, que acabamos de escuchar, ofrece la segunda perspectiva, si bien el lugar y el tiempo condicionan su glosa detallada.

Su exposición tiene el sugestivo título de «Bases moleculares de las enfermedades metabólicas. Prevención» y en ella, previo un apartado sobre el lenguaje de la vida, aborda el tema de la fisiopatología molecular, continúa con las metabopatías congénitas y adquiridas y concluye con una reseña sobre los proyectos de ayer y los logros de hoy. La exposición sistemática y clara está impregnada de referencias a los logros experimentales de la escuela de Mayor Zaragoza.

Me complace traer a colación ahora que dos de las principales líneas de investigación desarrolladas en los años 50 en mi Departamento fueron los oligoelementos y su función metabólica, y la bioquímica de las enzimas descarboxilantes. Los primeros trabajos de Federico Mayor en la glutamato descarboxilasa, en 1956, le llevaron a estudiar con detalle el ciclo del gamuna-aminobutírico, alternativo de un importante segmento del ciclo de Krebs, específico del cerebro. Ésta fue el principio de su interés por las neurociencias y su aplicación para la prevención de alteraciones que cursan con importantes disfunciones neuromotoras. El Plan Nacional de Prevención de la Subnormalidad, cuya primera versión data de 1965, constituye no sólo una iniciativa sanitaria de gran relieve para la detección precoz y tratamiento de varias metabopatías congénitas, sino un riguroso proyecto de investigación científica (genérica y metabólica) de alteraciones enzimáticas tan importantes como la fenilcetonuria, las hiperfenilalaninurias, las glicinemias, y otras, que —desarrolladas por sus colaboradores tanto en la Universidad de Granada como en la Universidad Autónoma de Madrid— permitieron y permiten avances considerables en la etiología de estas anomalías y sus implicaciones médicas.

Al advertir que un buen número de los niños afectos de retraso mental profundo no podían explicarse en base a afecciones congénitas, Federico Mayor inició el estudio de las interferencias producidas por el acúmulo de bilirrubina —liberada por los edemas endocraneales subsiguientes a períodos de hipoxia-anoxia en el momento del parto sobre el metabolismo cerebral. Junto a la Patología Molecular, todas estas actividades condujeron a la creación de la disciplina de Bioquímica Perinatal y al desarrollo de una serie

de líneas de trabajo de gran interés. A tales efectos ha promovido, junto a la determinación precoz de aminoacidopatías y acidurias orgánicas, la dotación de sistemas de regulación para evitar situaciones anóxicas en el momento de nacer. La primera vez que oí referirse a «receptorpatías» fue a Federico Mayor. Los receptores juegan un papel central en la regulación «fina» del metabolismo. Desde la fenilcetonuria a las β -adrenérgico-quininas, la conformación proteica espacial constituye la clave, ayer intuita, hoy demostrada, de la fisiopatología.

La actuación de Federico Mayor en el «lanzamiento» del Real Patronato y como Presidente de la Comisión creada en el Congreso de los Diputados sobre atención a los deficientes forman parte de esta faceta que debe destacarse en su semblanza. Sin duda alguna contribuyó a la redacción de los artículos de la Constitución Española relativos a la prevención de minusvalías. Muy importante en su quehacer fue la fundación del Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa», primera institución mixta Universidad-CSIC, junto con los profesores David Vázquez, Eladio Viñuela y Antonio García Bellido. Fue un auténtico punto de inflexión en unas tareas de investigación científica y en la docencia de la Bioquímica y Biología Molecular en España. Buena prueba de ello es el sobresaliente discurso de ingreso al que acabo de referirme.

HOMO POLITICUS Y HOMO MORALIS

Federico Mayor Zaragoza es catalán de memorables vivencias en la desembocadura del río Ebro, aunque nacido en Barcelona en 1934. Casado con María de los Ángeles Menéndez, bella, inteligente y ejemplar esposa, en las ondas sonoras de su convivencia no ha habido interferencias que hayan afectado peyorativamente a una serena y feliz sintonía conyugal. Es padre de tres entrañables hijos y abuelo de siete envidiables nietos. Cordial y ameno conversador, el número de sus amigos es ingente y extenso su bien ganado aprecio en los medios preferentemente culturales.

En términos filosóficos la parálisis del movimiento es la tristeza o añia que supone esterilidad, pero Federico es hombre con sonrisa a flor de labio, reflejo de un talante grato que supera lo fisiológico. En él se cumple aquello de que «el corazón alegre hace sonreír la cara» del Libro de los Proverbios. Mi estima hacia el

nuevo compañero académico se ha fortalecido con el trato, en el transcurso de los años. Una amistad —el plato fuerte del banquete de la vida de Lewis» que representa un sentimiento hondo, que de ningún modo significa contubernio sino que, al contrario, entra en la manifestación aristotélica capaz de una triple concurrencia de bienes: la *areté* o excelencia humana; la *frónesis* o prudencia; la *hedoné* o el placer. La amistad es la *folia*, el sentimiento excelso y sutil, conformada aquí por un buen hacer humano, científico y docente, que intento plasmar en este más bosquejo de semblanza que esbozo biográfico. Es evidente que el «ser» y el «ser de una forma concreta» no pueden separarse del todo; no se da una «existencia» sin una «esencia» y frente al recipiendario se contemplan ambas cosas. Una faceta importante del «ser» de Federico Mayor es la referente a su incursión, obligado por las circunstancias, en el campo de la administración pública. Además de haber sido Procurador en Cortes y Diputado al Parlamento de Estrasburgo, ha desempeñado los muy destacados cargos de Subsecretario y de Ministro de Educación y Ciencia.

Para mí es curioso observar la doble significación de la palabra servir; unas veces significa tener habilidad para realizar algo, otras estar a disposición de alguien. Según Johan Muizinge la condición humana no se agota con la imagen convencional del *homo sapiens*, del *homo habens* y del *homo ludens*. Es más, en la psicología del *homo politicus* opera la dialéctica que Hegel establecía como reguladora de toda relación interurbana, la del amo-esclavo que, con otras palabras, es la de poder y servicio. Sería gratificante ver siempre a los gobernantes llenos de espíritu de servicio y sólo anhelando el poder para servir mejor. Éste ha sido el caso de Federico Mayor Zaragoza, *homo moralis* que en sus cargos ha sabido resolver la paradoja servicio-poder.

El nombramiento de Federico como Presidente de la Comisión de Estado de un Régimen Administrativo Especial para Cataluña, al dar pábulo a sus inquietudes sociales, estoy convencido que contribuyó a restablecer la visión fundamental del *homo politicus* como *homo moralis*, preocupado por los problemas de fondo de la convivencia y eliminar así la imagen del *homo pugnas* de lucha por el poder. Como hemos visto, y sabíamos, su acción pluriforme y meritoria le ha llevado a un fecundo protagonismo en tareas mediatas e inmediatas, de colaboración, asesoramiento, dirección y gobierno de orden internacional. Yo diría que su traba-

jo ha implicado un erostratismo en pie de guerra con el hacha desenterrada desde el alba hasta el crepúsculo. Hoy día, a más de Presidente de la Fundación Ramón Areces, prestigiosa institución de ayuda a la ciencia. Es Presidente de la Fundación para una Cultura de Paz. Pero, sobre todo, destaca en sus limpios afanes políticos y morales su magnífico quehacer en la dirección de la Unesco. Elegido Director General Adjunto en 1972, fue nombrado, por libre elección en 1987, Director General, cargo que volvió a ocupar en 1993 después de nutrida votación. Su primera colaboración con la Unesco se inició al formar parte del Comité Consultivo del programa de Investigación Científica y Necesidades Humanas. En calidad de Director General de la Unesco pronunció la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos, que fue unánimemente aprobada por la Asamblea de las Naciones Unidas en el mes de diciembre de 1998. Y también pudo organizar la Conferencia Mundial de la Ciencia en Budapest en julio de 1999.

La antedicha elocuente lista de exclusivas distinciones avalan a Federico Mayor como sujeto extraordinariamente valioso, y ciertamente lo es. Sincero y bienintencionado, su atractivo principal radica en su veracidad, su capacidad de ilusionar con su esperanza, su defensa de los derechos de las gentes, su contribución a la solidaridad... Como reza el viejo adagio «*ad modum recipientis recipitur*», las cosas toman la forma del recipiente que los contiene. En el caso de nuestro hombre todo lo que posee adecuada entidad adquiere inmejorable estructura intelectual y moral.

Y no insisto más el pecado de desmesura —la *hybris* de los griegos— atenta contra los límites que nos impone nuestra condición de seres finitos y temporales, y no quisiera yo rebasarlos.

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

Debe, pues, terminar mi intervención. No olvidemos, además, lo que Montesquieu expresó en su día: «Cuanto menos se piensa, más se habla». Y, sin duda, lo que estos momentos atrae e interesa es el magnífico parlamento expuesto ya por él recipiendario.

Querido Federico: Bienvenido a esta antigua y prestigiosa Real

Academia Nacional de Medicina del Instituto de España, Institución que le recibe con el semblante más risueño, porque como recoge *De aventura della sapientia*: «La luz nunca viene sola, siempre trae consigo a un compañero, su nombre es alegría...».

Perdón previo suplico del auditorio por mi otra ulterior y pronta cita poética, dado que en Federico –como en algunos frutos– debajo de la corteza de un noble pragmatismo regional, posee una pulpa jugosa plena de idealismo que ha aflorado en tantas ocasiones en rimas primorosas expresadas, por ahora, en cuatro libros de poemas: *A contraviento*, *Aguafuertes*, *Terral* y *El fuego y la esperanza*.

Y finalizo, por tanto, con el augurio y deseo, reiterado a tan dilecto amigo de una ubérrima y venturosa andadura académica acorde con la lírica de Rafael Alberti por él tan estimada:

«Tú sabes bien que en mí no muere la esperanza,
que los años en mí no son hojas son flores,
que nunca soy pasado, sino siempre futuro».

He dicho.