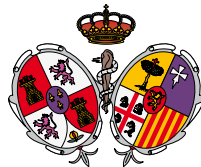




INSTITUTO DE ESPAÑA

ANALES  
DE LA  
REAL ACADEMIA DE MEDICINA  
DE ZARAGOZA

CONFERENCIAS  
Y  
COMUNICACIONES



ZARAGOZA  
31 DE DICIEMBRE DE 2015  
Vol. CVI

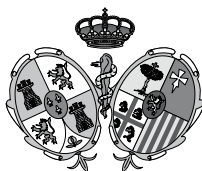




INSTITUTO DE ESPAÑA

ANALES  
DE LA  
REAL ACADEMIA DE MEDICINA  
DE ZARAGOZA

CONFERENCIAS  
Y  
COMUNICACIONES



ZARAGOZA  
31 DE DICIEMBRE DE 2015  
Vol. CVI

La Real Academia de Medicina de Zaragoza no se hace solidaria, ni asume ninguna responsabilidad relativa al contenido y a las opiniones en materia científica de los trabajos objeto de la presente publicación.

I.S.S.N.: 1134-1750 – Conferencias Vol. CVI  
Depósito Legal: Z-1434-2016

Edita y distribuye:  
Real Academia de Medicina  
Plaza Basilio Paraíso, 4 – 50005 Zaragoza

Composición e impresión:  
Navarro & Navarro Impresores.  
Corona de Aragón 28, local – 50009 Zaragoza

# ÍNDICE

Solemne Sesión Inaugural el día 22 de enero de 2015: <i>Salud: Amigo y enemigo de la mente en desarrollo</i> , por el Ilmo. Sr. D. José María Civeira Murillo .....	09
Sesión científica el día 5 de febrero de 2015: <i>Distrés psíquico. Influencia en resultados. Cirugía protésica de rodilla</i> , por el Prof. Dr. D. José Antonio Salido Valle. Presentado por el Excmo. Sr. D. Vicente Calatayud Maldonado .....	11
Sesión científica el día 19 de febrero de 2015: <i>Vida, obra y persona del Excmo. Sr. D. Joaquín Aznar García</i> , por el Excmo. Sr. D. Fernando Solsona Motrel .....	23
Sesión científica el día 12 de marzo de 2015: <i>Genética mitocondrial y respiración celular: Modelos de organización</i> , por el Ilmo. Sr. D. Acisclo Pérez Martos. Presentado por el Ilmo. Sr. D. Ignacio Andrés Arribas .....	25
Sesión científica conjunta Real Academia de Medicina y Aula Montpellier el día 19 de marzo de 2015: <i>Descifrado del genoma en el linfoma humano</i> por el Prof. Dr. D. Elías Campo Güerri. Presentado por el Ilmo. Sr. D. Luís Miguel Tobajas Asensio .....	45
Sesión científica del día 16 de abril de 2015: <i>Sanidad Militar. Cuarenta años de medicina logístico operativa</i> , por el Excmo. Sr. D. Jesús Rubio Izquierdo. Presentado por el Ilmo. Sr. D. Francisco José Carapeto y Márquez de Prado .....	47
Sesión científica del día 7 de mayo de 2015: <i>Desafíos en la enseñanza de la medicina</i> , por el Prof. Dr. D. Fernando Civeira Murillo .....	53
I Jornada Temática de la Real Academia de Medicina y Aula Montpellier, el día 14 de mayo de 2015: Embarazo, Parto y Lactancia: <i>Embriología de la Embriología</i> por el Ilmo. Sr. D. Heraclio Martínez Hernández, <i>Antropología del Parto</i> por el Dr. D. Sergio Castán Mateo y <i>La lactancia Materna en le Arte</i> por el Excmo. Sr. D. Manuel Bueno Sánchez .....	55
Sesión científica del día 21 de mayo de 2015: <i>El lenguaje de los médicos</i> , por el Prof. Dr. D. Hugo Liaño Martínez. Presentado por el Ilmo. Sr. D. Eduardo Coscolín Fuertes .....	57

Sesión científica del día 4 de junio de 2015: <i>El error de la medida en la investigación médica</i> , por el Ilmo. Sr. D. Miguel Anderiz López.....	71
Sesión científica del día 1 de octubre de 2015: <i>Localización morfológica de neurotransmisores en el sistema nervioso autónomo</i> , por el Prof. Dr. D. Manuel Lahoz Gimeno. Presentado por el Ilmo. Sr. D. Arturo Vera Gil .....	95
Sesión científica del día 22 de octubre de 2015: <i>Mi convivencia con Don Gregorio Marañón</i> . Por el Ilmo. Sr. D. Santiago Martínez Fornés .....	127
Solemne Sesión de apertura del curso de las Academias de Aragón del día 29 de octubre de 2015: <i>Los Antioxidantes en la Vida, en la Farmacia y en la Tecnología de Alimentos</i> , por el Ilmo. Sr. D. Pedro Roncalés Rabinal .....	145
Sesión científica del día 5 de noviembre de 2015: <i>Estudio Genético-molecular de las enfermedades mitocondriales humanas</i> , por el Ilmo. Sr. D. Julio Montoya Villarroya. Presentado por la Ilma. Sra. D <sup>a</sup> . Caridad Sánchez Acedo .....	147
Sesión científica conjunta Real Academia de Medicina y Asociación de Termas de Aragón el día 19 de noviembre de 2015: <i>Descubre lo que te ofrecen los balnearios aragoneses</i> . Por el Dr. D. Joaquín Guillén Mateo. <i>Últimos avances en hidrología médica</i> por el Dr. D. Antonio Hernández Torres. Presentado por el Ilmo. Sr. D. Francisco José Gaudó Gaudó. ....	193
Sesión de Clausura del Curso 2015 del día 3 de diciembre de 2015: <i>Moderna aproximación a la farmacología de la discapacidad intelectual</i> , por el Excmo. Sr. Prof. D. Jesús Flórez Beledo. Presentado por el Ilmo. Sr. D. Mariano Mateo Arrizabalaga .....	199
Premio Analiza & Montpellier laboratorio 2015. Tesis Doctoral: <i>Angiogenesis and Lymphangiogenesis in Melanoma</i> . Por la Dra. D <sup>a</sup> . Ievgenia Pastushenko.....	205
Premio Real Academia de Medicina 2015. Título: <i>Evolución de la incidencia del cáncer en todas sus localizaciones entre los años 2007 y 2013 en Aragón</i> . Lema: <i>Evolución</i> . Por el Dr. D. Germán Jorge Gómez Bernal .....	207

C O N F E R E N C I A S  
Y  
C O M U N I C A C I O N E S

Pronunciadas en la sede  
de la Real Academia de Medicina  
de Zaragoza en el año 2015





SOLEMNE SESIÓN INAUGURAL  
DEL DÍA 22 DE ENERO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

SALUD:  
AMIGO Y ENEMIGO  
DE LA MENTE EN DESARROLLO

DISCURSO INAUGURAL POR EL  
ILMO. SR. D. JOSÉ MARÍA CIVEIRA MURILLO  
ACADÉMICO NUMERARIO

\*Publicado en tomo aparte.



SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 5 DE FEBRERO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

DISTRÉS PSÍQUICO.  
INFLUENCIA EN RESULTADOS.  
CIRUGÍA PROTÉSICA DE RODILLA

POR EL  
PROF. DR. D. JOSÉ ANTONIO SALIDO VALLE  
MÉDICO ESPECIALISTA EN TRAUMATOLOGÍA  
Y CIRUGÍA ORTOPÉDICA.  
JEFE DEL SERVICIO DE TRAUMATOLOGÍA Y CIRUGÍA ORTOPÉDICA  
DEL HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO  
DE CIUDAD REAL (1987-2003)

PRESENTADO POR EL  
EXCMO. SR. D. VICENTE CALATAYUD MALDONADO  
ACADÉMICO DE NÚMERO



Permítanme queridos amigos y querido José Antonio que inicie, este, para mi especialmente emocionante y conmovedor homenaje jubilar, al Dr José Antonio Salido Valle, con una frase de Dn. Francisco de Quevedo y Villegas que dice así: “lo que en la juventud se aprende, toda la vida dura”. Al Dr. Salido antes de tener el honor de hacerlo personalmente yo lo conocía, como se dice en nuestra tierra “de oídas”, por sus cualidades humanas y sociales, gracias a un amigo común de Jerez de la Frontera.

El amor a la verdad, el respeto a la vida, el sacrificio, la perseverancia, el orden y la vocación por la profesión, los aprendió a través de la honrada sencillez de sus padres, completando esta educación familiar con una excelente formación escolar donde adquirió los conocimientos básicos, suficientes, para iniciar una andadura que condujese a nuestro querido compañero José Antonio Salido, como ser humano, a ordenar y organizar su vida en estratos, en ciclos, en pasajes ricos en experiencias que permitieron alcanzar una madurez multifactorial utilizando la razón y la palabra como expresión de la misma.

Ha seguido las enseñanzas de los que le dieron la vida biológica, después las huellas de sus maestros hasta conseguir transitar y avanzar por su propia inercia, conocimiento e imaginación en la especialidad de Traumatología que eligió, para ser feliz, pero la felicidad como apuntó Kant no es un ideal de la razón, sino de la imaginación.

Por eso, el Dr. Salido con su imaginación razonada, en ocasiones dominada por los sentimientos y la pasión, permitió que investigando sobre biomecánica articular, supiera deshojar y encontrar a Margarita y activar un entrañable mecanismo a través del Arquero Cupido que hoy, en este absurdo progresismo galénico hemos decidido llamar biomagnetismo. Construyó un cuerpo neuronal familiar con ramificaciones funcionales, cuyos axones en tercera generación, hacen realidad testimonial aquella neuroplasticidad convertida en neuroamor.

El Dr. Salido con el que me une hoy, algo más que una fraternal amistad, eligió el complicado y muchas veces poco agradecido peaje de la Docencia, recorriendo todas sus senderos, vías y veredas, casi nunca fáciles, que con paciente, serena e inteligente peregrinación transitó a lo largo y ancho de España. Docente, científico e investigador, actividades a las que además de su experiencia profesional siempre impregnaba una gran dosis de humanismo y fe.

Piensa, Sueña, Cree y Atrévete decía Walt Disney al construir sus personajes de leyenda, permítanme que no me detenga mucho en el análisis de su innumerable y fructífera labor docente, asistencial e investigadora: Licenciatura en la Facultad de Medicina de Cádiz. Doctorado en la Universidad de Alcalá. Académico de la Real Academia de Medicina de Cádiz. Médico Residente en 1973 en el Hospital La Paz (Escuela Palacios Carvajal). Médico Adjunto en 1977 en el Hospital Ramón y Cajal, Jefe de Servicio en el Hospital General de Ciudad Real.

Ha dirigido 6 tesis doctorales.

Labor sobradamente conocida y comentada por ilustres compañeros.

Yo hoy aquí, me voy atrever a pensar en voz alta, a soñar una vez más con sus proyectos, con la esperanza de que verán buen fin en manos de sus múltiples discípulos y colaboradores. Me refiero a las huellas, científicas, éticas y morales además de las docentes que supo transmitir y deja como legado en el hasta ahora recorrido profesional y académico, por las Instituciones, en las que practicó la docencia de la Traumatología, con criterio universal, pero valorando en su justa medida las áreas específicas de la misma a las que le dio contenido clínico, fomentando con acierto la investigación. Un universitario íntegro, con arte como maestro, energía vital como ser humano, un personaje con valores y sentimientos que hacían vibrar la sensibilidad de residentes y colaboradores. Hombre de profundas creencias a las que nunca defraudó y en las que frecuentemente fundamentaba muchas de sus acciones y actividades. Es un hombre en el que el amor y la amistad eran la última filosofía de la tierra y del cielo, en palabras de Quevedo.

Excelente alumno, insuperable compañero e inigualable gestor de sus capacidades científicas, por cierto, muy fértiles. Ha publicado en las revistas de su especialidad con más prestigio:

Journal of Bone and Joint Surgery Americano, Clinical Orthopaedics, Wound Repair and Regeneration, Acta Ortopédica Escandinávica, Revista Francesa de Traumatología, Journal of Trauma and Critical Care Acta ortopédica Belga. Es autor de un capítulo del libro en la editorial Nova Biomedical de New York.

Su eterna disposición, para aproximar ideas y sensibilidades, de forma excepcional, sin fantasías en la docencia del conocimiento científico de la Traumatología en todas sus facetas, siendo capaz, de formar una escuela de Traumatología, dándole funcionalidad dinámica a la estática morfología que ha permitido entender a propios y extraños los síntomas clínicos en la patología. Se adorna de una excepcional modestia y humildad. No siempre comprendidas, aunque siempre practicadas.

La Ciencia para él consistía en la búsqueda disciplinada, cuidadosa y lógica del conocimiento acerca de todos y cada uno de los aspectos del universo, obtenidos por el examen de las mejores ideas y evidencias disponibles, siempre sujetas a corrección y mejora por el descubrimiento de otras. Una vida dedicada a la enseñanza y al avance de la ciencia.

En nuestros intentos, renunciamos a lo que somos por lo que esperamos ser, pero, como indicaba Shakespeare, “Nunca hay pecado en seguir la propia vocación”.

La constante superación personal ha sido siempre uno de sus retos, un proceso de transformación y desarrollo, a través del cual ha tratado de adoptar nuevas formas de pensamiento y adquirir una serie de cualidades que mejorarán la calidad de su vida y de los que le rodean. La superación no llega con el tiempo ni con el simple deseo o con la automatización, requiere acciones inmediatas, planificación, esfuerzo y trabajo continuo, que practicaba, enseñaba y exigía. La superación es el valor que motiva a la persona a perfeccionarse a sí misma, en lo humano, espiritual y profesional, venciendo los obstáculos y dificultades que se presenten, desarrollando la capacidad de hacer mayores esfuerzos para lograr cada objetivo que se proponga.

Cuántas horas soñando con la ubicación de la razón y los sentimientos. Cuántos momentos analizando los puntos sensibles, siempre con su componente filosófico científico. Cuánto tiempo en el estudio de los contenidos de su disciplina pretendiendo seducir con nuevos conceptos, buscando su sentido, y tratando de descubrir los principios, leyes y experimentos involucrados en una teoría científica. Decía Paulo Coelho que el Universo siempre conspira a favor de los soñadores. José Antonio Salido es un soñador creador.

Muchas empresas, grandes y pequeñas, muchos proyectos, muchos buenos propósitos e intenciones se han hecho realidad gracias a la constancia y perseverancia del Dr. Salido. Tras el esfuerzo inicial, apuesta siempre por el esfuerzo continuado. La constancia, parece ser que a primera vista no se considera demasiado importante, pero sin ella, es imposible la obtención de resultados en cualquier campo de la vida. Su trayectoria confirma que es consciente de que la edificación de un proyecto vital no es cosa de un día. Quien quiere construir la vida con sólidos valores no puede poner un esfuerzo intermitente al vaivén de los estados anímicos o de las circunstancias. Fue consciente de que no era posible levantar una gran empresa como la Sanidad Pública sin la voluntad y el empeño tenaz de muchos hombres que han y siguen luchando y dedicando sus vidas a ese proyecto. Nunca sintió desánimo, incluso cuando encontró dificultad en su decidido caminar, superando dificultades que le permitieron traducir sus sueños en realizaciones efectivas.

Entendió precozmente las influencias recíprocas entre los avances científicos, las innovaciones tecnológicas y los fenómenos sociales (relación ciencia/tecnología/sociedad), causas, y al mismo tiempo, efectos del devenir universitario, científico, económico y cultural del ser humano.

En algunas de nuestras conversaciones filosóficas, afirma con contundencia que en la formación de la constancia, es imprescindible contar con una voluntad fuerte que se renueva con el sacrificio personal, no sólo con grandes pero aislados sacrificios, sino en los pequeños actos, en el día a día, que contribuyen a formar sólidos hábitos de conducta que permiten enriquecer nuestras vidas, cuidando una forma especial de comportarse y un sentido de responsabilidad. Cada párrafo y cada frase, que has escrito en esta parte del libro de tu vida deben, y así lo espero, ser ejemplo y modelo para tu familia y para todos nosotros. Un científico debe tomarse la libertad de plantear cualquier cuestión, de dudar de cualquier afirmación, de corregir errores y dificultades. Pero como le dice Dn. Quijote a Sancho: “Hemos de dar crédito, Sancho, a las obras y no a las palabras”, yo hoy, con el debido respeto a nuestro universal Alonso Quijano, he pretendido demostrar que en el Dr. Salido tienen tanto crédito sus obras como sus palabras.

Enhorabuena.



## **DISTRÉS PSÍQUICO. INFLUENCIA EN LOS RESULTADOS DE LA CIRUGÍA PROTÉSICA DE RODILLA**

Los objetivos que se pretenden conseguir con esta exposición son dos: 1º.- Valorar la influencia del *distrés* psíquico en los resultados de la cirugía protésica de rodilla. 2º.- Reivindicar el sintagma *distrés* psíquico como definición de la realidad clínica que se quiere expresar.

### **INTRODUCCIÓN**

Las enfermedades degenerativas, como la artrosis, son un problema importante por su alta prevalencia en los países del mal llamado primer mundo, constituyendo por su alto coste económico y social un importante problema de salud pública. Pero su impacto se extiende más allá de la incapacidad física que produce, afectando a lo que se ha denominado calidad de vida relacionada con la salud. Por el dolor y la acusada incapacidad física que produce su localización en la rodilla, la gonartrosis, se han incrementando casi exponencialmente las indicaciones quirúrgicas de cirugía protésica. En EE.UU el 4,2% de la población mayor de 50 años es portador de una prótesis de rodilla (Wenstein 2013). El objetivo fundamental de esta técnica es mejorar esta sintomatología dolorosa, y por ende es considerada por algunos autores como un verdadero instrumento de calidad de vida.

Pero al estudiar los resultados de esta cirugía, se observa una proporción significativa de pacientes en los que persiste dolor crónico de rodilla y/o discapacidad, lo que se traduce en mala calidad de vida e insatisfacción. Algunos de estos resultados, llamémosle “pobres”, se asocian con factores relacionados con la propia técnica quirúrgica o con el mismo implante. Pero otros son médicamente inexplicables. Y, todo ello, a pesar del gran desarrollo alcanzado por la tribología, los biomateriales y el diseño de implantes. Estos problemas conducen a análisis a todos los niveles –demográfico, psicosocial, físico y médico–, en pos de factores predictivos de resultados. Y algunos de los factores que han ido cobrando cada vez más relevancia en relación con resultados insatisfactorios, han sido los relacionados con la Salud Mental; y entre estos factores relacionados con la Salud Mental, ha ganado notoriedad en la literatura científica el sintagma ***Distrés psíquico***.

## ***DISTRÉS PSÍQUICO***

¿Qué es un *distrés*? Es una voz que no está incluida ni en el diccionario de la Real Academia Española (RAE), ni en el de Términos Médicos de la Real Academia Nacional de Medicina (RANM), por considerarlo un anglicismo innecesario. Pero, paradójicamente, éste último ante el uso, que podríamos calificar de masivo en la literatura científica, sí incluye dos sintagmas con esta voz –*distrés fetal* y *distrés respiratorio*–.

Pues desde principios de este siglo, emerge con fuerza otro sintagma formado por la palabra *distrés*: el “*distrés psíquico*”. Éste me agradó cuando lo leí en el contexto clínico perquirúrgico de pacientes que iban a ser intervenidos de cirugía protésica articular, para expresar la realidad clínica de una alteración de la salud mental presente en algunos de estos enfermos. Hasta entonces, y todavía hoy, se utiliza una terminología muy variopinta.

Para fundamentar mi adhesión a este sintagma, lo primero es considerar el concepto del término *distrés*. Éste se debe a Hans Selye –considerado el “padre del estrés” en Medicina–, que en 1936, en *Nature*, adopta el término físico de estrés para definir una respuesta no específica del organismo ante cualquier demanda que se le imponga. Posteriormente, en 1974, en ***American Scientist***, diferencia dos tipos de respuestas a la demanda: 1ª. Cuando se ajusta a las necesidades generadas por ella, se produce una adaptación fisiológica o “*eustrés*”. 2ª. Por el contrario, cuando es insuficiente, errónea o excesiva, la denomina “*distrés*”.

Con lo expuesto, resulta fácilmente comprensible que cualquier enfermedad considerada holísticamente –o incluso mejor, antropológicamente–, tiene una repercusión psicológica, dependiendo no solo de la gravedad de la misma, sino también del sujeto que la padece. Así, el dolor y la discapacidad funcional, la incertidumbre diagnóstica y pronóstica, la inseguridad ante una intervención quirúrgica, los problemas familiares, económicos, laborales, etc., que lleva aparejados la enfermedad, suponen una sobrecarga psico-física, que puede conducir a una situación de *distrés*, de acuerdo con el concepto de Selye.

Centrándonos en nuestro tema considero que el sintagma *distrés psíquico* es el que mejor define la realidad clínica de una alteración de la Salud Mental, con los matices de ser: 1º) Una respuesta no específica del organismo ante una demanda, en nuestro caso su patología de rodilla; 2º) Potencialmente recuperable al desaparecer su clínica con un tratamiento médico o quirúrgico, en este contexto, la prótesis de rodilla; y 3º) Con capacidad de repercutir en los resultados de la precitada técnica.

## **¿CÓMO SE EVALÚAN LOS RESULTADOS DE LAS PRÓTESIS DE RODILLA?**

Clásicamente los resultados con parámetros clínicos, en los que salvo el dolor, predominan las dimensiones físicas (movilidad, alineación, etc.), que se evalúan desde el punto de vista del cirujano. Pero en ocasiones, y no pocas, se constata una discrepancia entre la apreciación de los resultados por parte del médico y la del enfermo, expresión de una disarmonía entre estas dimensiones físicas, valoradas por el médico, y otras dimensiones –mentales, sociales, emocionales y espirituales–, para cuya valoración es de importancia capital e insustituible el concurso del enfermo. Consecuentemente, deberemos utilizar, por lo anteriormente expuesto, como mínimo dos tipos de cuestionarios que recojan ambos puntos de vista –del médico y del enfermo–. Estos son:

- 1.- Escalas de valoración de resultados de la rodilla (punto de vista médico).
- 2.- Cuestionarios para valorar la Calidad de Vida (punto de vista enfermo).

Y en nuestro tema concreto, se hace necesario algún Cuestionario para objetivar la presencia o ausencia de *distrés* psíquico.

Exponemos, de forma escueta, los utilizados en el desarrollo de este tema.

- 1.- Knee Society Score System (KSS): Es la escala de valoración de resultados de la rodilla propuesta por la Sociedad Americana de Rodilla. Consta de dos subescalas, una de rodilla que se basa en datos exploratorios recogidos por el cirujano teniendo una puntuación máxima de 100 puntos una rodilla absolutamente normal; esta subescala recoge exclusivamente el punto de vista médico, al estar además sujeta a errores del examinador. La otra subescala es la funcional, que valora la capacidad funcional de la rodilla –de marcha y de subir y bajar escaleras–, en una entrevista del médico con el paciente; la puntuación máxima es de 100 como la anterior, y se considera que recoge un punto de vista mixto, ya que puede haber sesgos interpretativos del interlocutor médico.
- 2.- Western Ontario McMaster University Osteoarthritis Index (WOMAC): Es un cuestionario específico de calidad de vida para enfermos con patología de cadera y rodilla, que consta de 24 preguntas con cinco categorías de respuestas, que se valoran de 0 a 4 puntos, y que deben contestarse por el paciente sin ayuda. Valoran el dolor, la rigidez y la funcionalidad, pudiendo obtenerse un máximo de 96 puntos, que en este caso coincide con la peor calidad de vida.

Hospital Anxiety and Depression Scale (HADS): Es un cuestionario para valorar el *Distrés* Psíquico. Es también, como el anterior, auto-aplicado de catorce preguntas, con dos subescalas de 7 preguntas cada una, una de ansiedad, las preguntas impares, y otra de depresión, las

pares. También es tipo Likert con cuatro respuestas posibles, que se puntúan de 0 a 3, siendo el máximo a obtener 21 puntos en cada escala. Algunos autores lo valoran dicotómicamente con punto de corte en 10, considerando casos a las puntuaciones superiores a esta cifra.

## **REPERCUSIÓN DEL *DISTRÉS* PSÍQUICO EN LOS RESULTADOS DE LA CIRUGÍA PROTÉSICA DE RODILLA**

Se expone un trabajo de nuestro grupo de investigación, para aportar experiencia vivida. Consiste en un estudio longitudinal, observacional y prospectivo, de seguimiento de una cohorte de 265 pacientes intervenidos de artroplastia total de rodilla primaria, procedentes de la lista de espera quirúrgica. La muestra finalmente estudiada fue de 193 casos.

### **Análisis Descriptivo resultados**

**KSS:** La subescala de rodilla, puntuó preoperatoriamente una media de 38,42 puntos sobre 100 posibles, es decir, la situación clínica de los pacientes era bastante mala (<60); al año subió a 84,10, por lo que su situación clínica era excelente (100-80). La subescala de función puntuó preoperatoriamente una media de 41,55, siendo su situación mala al estar por debajo de 60 puntos; al año subió a 67,33, por lo que consiguieron una función aceptable (60-69).

**WOMAC:** Preoperatoriamente puntuaron 57,10, es decir, recordando que en este cuestionario más puntos es peor, tenían una mala calidad de vida (>38); al año la puntuación fue de 18,58, por lo que los enfermos se auto-valoraban con una buena calidad de vida (15-28).

**HADS:** Preoperatoriamente se detectaron 67 casos de *distrés* psíquico (34,7% muestra) debiendo destacarse, con significación estadística ( $p=0,001$ ), su mayor prevalencia en la mujer (44,5%) que en el hombre (10,7%). Al año de la cirugía, hubo 39 casos (20,2%).

Análisis inferencial del *distrés* psíquico con resultados

**Con KSS:** La puntuación media mejoró al año de la cirugía tanto en los pacientes sin *distrés* psíquico prequirúrgico, como en los que lo presentaban, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos. Por el contrario, aquellos pacientes que presentaban *distrés* psíquico al año de la cirugía mejoraron menos, alcanzando significación estadística en la subescala de función ( $p=0,028$ ).

**Con WOMAC:** Debe destacarse que mejoraron más los pacientes con *distrés* psíquico prequirúrgico ( $p=0,015$ ). Esto fue una sorpresa, dado

su “mala fama” de predictor de malos resultados, aunque *a priori*, recurriendo a la lógica, pensamos que pudiera ser debido a que los pacientes con *distrés* prequirúrgico, cuyo porcentaje había disminuido tras la cirugía, mejoraban en una doble dimensión, física y física. Los que no lo tenían sólo podían mejorar físicamente al estar en *eustrés*. Para objetivar esta opinión recurrimos a un análisis inferencial del evolutivo del *distrés*.

## Análisis Inferencial del Evolutivo del Distrés

### Posibilidades Evolutivas



	Prequirúrgico	Al Año	Número de pacientes
Grupo 1	X	X	112
Grupo 2	✓	✓	25
Grupo 3	✓	X	42
Grupo 4	X	✓	14

### Análisis inferencial del evolutivo del *distrés* psíquico con resultados

Las posibilidades evolutivas del *distrés* psíquico se recogen en la tabla que se expone arriba. Se les sometió a estos grupos a un estudio en dos fases: 1ª) comparativo global mediante el método ANOVA, y 2ª) comparaciones múltiples con el test de Bonferroni. Con el método Anova se comprobó que el grupo que más mejoró fue el 3, tanto desde el punto de vista del médico (subescala rodilla KSS), como del enfermo (WOMAC), y mixto (subescala función KSS). Y el que menos mejoró desde el punto de vista del enfermo y mixto fue el 4; desde el punto vista puramente médico (subescala rodilla KSS), fue el 2. El comparativo del WOMAC entre el grupo 3 y 4 fue significativo ( $p=0,006$ ). El test de Bonferroni, de comparaciones múltiples, también objetivó la mayor diferencia en mejoría del WOMAC entre estos dos grupos evolutivos, 3 y 4, con una diferencia significativa ( $p=0,005$ ).

## **CONSIDERACIONES FINALES**

A la vista de todo lo expuesto, se deben hacer dos consideraciones finales en relación a los objetivos que se anticipaban al inicio:

- 1<sup>a</sup>.- Este estudio vino a confirmar nuestra opinión, columbrada en la lógica, de que era soportable la mayor mejoría en calidad de vida de los pacientes con *distrés* psíquico prequirúrgico tras la cirugía de reemplazo articular de rodilla, al mejorar no sólo física sino también psíquicamente. En nuestro estudio remitieron, al año de la intervención, en los pacientes que presentaban *distrés* psíquico prequirúrgico 42/67, esto es el 62,6% de los casos, casi las dos terceras partes.
- 2<sup>a</sup>.- En relación con el sintagma *distrés* psíquico, y anteponiendo las caute- las que deben regir en la función de la RAE para dar entrada en su diccionario a extranjerismos, entiendo que tanto los términos *distrés* como *eustrés* cumplen el criterio de actualidad que establece la RAE para dar entrada a términos científicos. Con este criterio de actualidad, el también anglicismo *estrés* está recogido actualmente tanto en el diccionario de la RAE, como en el Diccionario de Términos Médicos de la RANM. Darles entrada a *distrés* y *eustrés*, en mi criterio, cumpliría mejor la función del lenguaje de expresar la realidad. Y al tener ya entrada el término *estrés*, sólo sería cuestión de unos prefijos.

**Dr. José Antonio Salido Valle**

SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 19 DE FEBRERO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

VIDA, OBRA Y PERSONA DEL  
EXCMO. SR. D. JOAQUÍN AZNAR GARCÍA

POR EL  
EXCMO. SR. D. FERNANDO SOLSONA MOTREL  
PRESIDENTE DE HONOR Y ACADÉMICO DE NÚMERO  
DE LA REAL ACADEMIA DE MEDICINA DE ZARAGOZA

\*Publicado en tomo aparte.





SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 12 DE MARZO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

GENÉTICA MITOCONDRIAL  
Y RESPIRACIÓN CELULAR:  
MODELOS DE ORGANIZACIÓN

POR EL  
ILMO. SR. D. ACISCLO PÉREZ MARTOS  
ACADÉMICO NUMERARIO  
DE LA ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN".  
PROFESOR DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR  
DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

PRESENTADO POR EL  
ILMO. SR. D. IGNACIO ANDRÉS ARRIBAS  
ACADÉMICO DE NÚMERO



Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina de Zaragoza  
Excelentísimos e Ilustrísimos señoras y señores Académicos  
Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades  
Señoras y Señores.

Es para mi un deber de gratitud, expresar mi satisfacción al Excmo. Sr. Presidente y a su Junta Directiva por el honor que me otorgan, al brindarme la oportunidad de presentar a un querido, respetable y admirado amigo, el Ilustrísimo Sr. D. Acisclo Pérez Martos

Debo declarar que me hago cargo del cometido con particular agrado, teniendo en cuenta la relación que durante los últimos años me ha acercado al conferenciante y permitido poder valorar, creo que objetiva y fundadamente, sus cualidades profesionales y personales, –estimo que nada comunes– que definen su perfil profesional y humano.

Quiero, sin herir su modestia y sencillez, hacer un justo balance de quien es el Profesor Pérez Martos y de porqué está hoy aquí. En honor a la brevedad intentaré resumir su apretado Currículum Vitae.

Nacido en Carcabuey, su padre era el farmacéutico del municipio cordobés y, al hijo de su mismo nombre, sus convecinos siempre le consideraron continuador de la farmacia paterna. Por lo que indefectiblemente cursó los estudios de Farmacia en las Universidades de Granada y Santiago de Compostela, sin embargo no aceptó la predestinada herencia. Ahora, según ha reconocido en múltiples ocasiones, si tuviera que volver a estudiar, elegiría de nuevo Farmacia y, aunque nunca ha ejercido oficialmente de farmacéutico, él siempre se ha sentido como tal.

La causa de no ejercer de farmacéutico de oficina de farmacia es atribuible a su relación con la asignatura de bioquímica, que fue prácticamente la penúltima de la carrera, entrando de alumno interno en el laboratorio del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Santiago de Compostela. Aunque inicialmente le interesaban más los análisis clínicos, porque los hacía con su padre, con la tesina de licenciatura en la citada asignatura se percató que prefería investigar cosas nuevas antes que repetir lo que otros habían hecho.

Se licenció en Farmacia por la Universidad de Santiago de Compostela en 1971 con nota de sobresaliente. Este año fue el último en que se dieron clases en el histórico recinto de Fonseca.

Se doctoró en Farmacia por la misma Universidad de Santiago de Compostela, defendiendo la Tesis Doctoral: “Metabolismo del Manitol y Sorbitol en *Aspergillus oryzae*”. Dirigida por uno de sus mentores el Prof. Dr. D. Manuel Ruiz Amil. Realizada en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Santiago de Compostela, obteniendo la calificación de Sobresaliente cum laude. La Fecha de lectura de la tesis, 28 Octubre 1974.

Durante los tres años de doctorando fue Profesor Ayudante de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad compostelana, hasta la lectura de la tesis doctoral con la que llegó su nombramiento como Catedrático interino de Bioquímica en la misma Facultad de Farmacia en el año 1974.

Desde 1976, la Universidad de Zaragoza paso a ser el principal escenario de su vida laboral como Profesor de Bioquímica e investigador en la misma rama, siendo uno de los impulsores en esta Universidad de dicha asignatura, que debemos recordar inició su andadura con un farmacéutico, Carracido, en la Facultad de Farmacia de Madrid a finales del siglo XIX.

Este cambio a tierras mañas se debió a su matrimonio con Marina García Caudevilla, farmacéutica, hija de farmacéutico, y al nacimiento de sus hijos, Jorge, ingeniero informático, y la continuadora de la saga farmacéutica, Marina.

- Prof. Agregado interino de Bioquímica. Facultad de Veterinaria. Universidad de Zaragoza (1976-1985).
- Profesor Titular de Universidad (Bioquímica y Biología Molecular) desde 1985.
- Secretario y Subdirector del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular de la Universidad de Zaragoza (14 años).
- Director del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular de la Universidad de Zaragoza (4 años).
- Miembro electo del Claustro Constitucional de la Universidad de Zaragoza (1984).
- Miembro electo del Claustro de la Universidad de Zaragoza durante el periodo 1985-1990.
- Miembro electo de la Junta de Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Durante el periodo 1982-1993.
- Miembro electo de la Comisión Permanente de la Facultad de Veterinaria Universidad de Zaragoza durante 1989-1993.
- Decano en funciones de la Facultad de Veterinaria durante 4 meses (Enero-Abril de 1993).

## CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

- Profesor invitado en el PHYSIOLOGISCHES INSTITUT de la Facultad de Medicina Universidad Heidelberg.
- Presidente de la Comisión de Control de Calidad de la Docencia de la Licenciatura de Bioquímica. Universidad de Zaragoza
- Evaluador de Proyectos de la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP).
- Supervisor de instalaciones radiactivas (JEN 1982).
- Codirector del Grupo de Investigación GENOXFOS.
- Miembro del PROYECTO CONSOLIDER ROSAS-NET (Reactive Oxygen Species and System).
- Miembro de la REDCIEN de enfermedades neurológicas (03/09), RC-N34-3.
- Investigador visitante del Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC) Madrid.
- Profesor Emérito. Universidad de Zaragoza en 2010.

### Publicaciones e investigación:

- Más de 150 comunicaciones a congresos nacionales e internacionales (entre paneles, comunicaciones orales y conferencias invitadas).
- Más de 50 publicaciones científicas en revistas nacionales e internacionales del máximo índice de impacto (Nature Genetics, Science, Cell Metabolism, Molecular Cell, Human Molecular Genetic, Molecular and Cellular Biology (MCB), Proceeding National Academic Science New York. U.S.A.(PNAS), PloS Genetics, American Journal of Human Genetic, Nucleic Acid Research, etc).
- 6 capítulos de libro por invitación editorial: Methods in Enzymology vol 264, Mitochondria in Methods in Cell Biology, vol. 80, Methods in Molecular Biology, vol. 457, Membrane trafficking.
- Participación en mas de 40 proyectos de investigación financiados por entidades Regionales, Nacionales y Europeas. Como Investigador Principal o co-solicitante.
- Dirección de 11 Tesis de Licenciatura y 5 Tesis doctorales.

Su importante labor docente e investigadora en la Universidad nunca le ha impedido establecer con las entidades profesionales farmacéuticas un vínculo muy especial. Colegiado desde 1979 en el Colegio Oficial de Farmacéuticos de Zaragoza, ha sido vocal de docencia e investigación durante 10 años, ade-

más de ser uno de los profesores más ilustres que han pasado por las aulas formativas del Colegio. Impulsor, junto al Excmo. Sr. D. Manuel López Pérez y el Ilmo. Santiago Andrés Magallón, de la Academia de Farmacia “Reino de Aragón” de la que es Académico numerario fundador y en la actualidad ejerce de Tesorero. Es, seguro, uno de los más insignes representantes de la Farmacia en Aragón. Ha recibido el título de Colegiado Distinguido, y también se le ha concedido la más alta distinción que otorga la organización colegial, la de Colegiado de Honor.

Sin duda la investigación ha configurado uno de los capítulos más importantes de su trayectoria profesional. Sus principales líneas de investigación se han centrado en el envejecimiento y el ADN mitocondrial (mtADN), la infertilidad humana y las mutaciones en el ADN mitocondrial, los mecanismos moleculares de las patologías humanas asociadas a esas mutaciones, la expresión y regulación del genoma mitocondrial y la genética funcional del sistema de fosforilación oxidativa. Co-director del Grupo de Investigación GENOXFOS, catalogado como Grupo de Excelencia por la Comunidad Autónoma de Aragón, ha sido miembro del consorcio europeo EUMITOCOMBAT, consorcio de referencia europeo para la investigación de enfermedades causadas por disfunciones del Sistema OXPHOS que estudia los factores genéticos poblacionales que influyen en la longevidad, la sordera, la fertilidad, la capacidad de aprendizaje o la respuesta adversa a fármacos.

Uno de los mayores hallazgos del grupo de investigación GENOXFOS, y que, con toda seguridad, hará modificar los libros de texto de Bioquímica, ya que supone una completa reformulación del funcionamiento de la mitocondria, explica cómo las células generan energía a partir de los nutrientes. Entender cómo ocurre la generación de energía en las células es fundamental para entender la vida. Este es el tema que va a desarrollar a continuación para nuestra Academia el Profesor Pérez Martos concretamente. “Genética mitocondrial y respiración celular: modelo de organización”. Con este modelo que nos va a describir se redefine uno de los procesos fundamentales para la vida en todas las células.

**Ignacio Andrés Arribas**

## **GENÉTICA MITOCONDRIAL Y RESPIRACIÓN CELULAR: MODELOS DE ORGANIZACIÓN**

Mi intervención de esta tarde consistirá en exponer los resultados mas significativos obtenidos por nuestro grupo de investigación, que nos han llevado a proponer un nuevo modelo de los mecanismos moleculares que emplea la célula para oxidar los nutrientes y obtener la energía necesaria para su subsistencia, con el siguiente esquema.

Empezaré recordando que la célula es el nivel de organización mas pequeño que tiene la capacidad de autoperpetuarse; es la unidad anatómica, funcional y genética de los seres vivos. Todas las funciones que realiza la célula, están compartimentadas en los diferentes orgánulos; de entre ellos son las mitocondrias las encargadas de extraer la energía de los nutrientes y transformarla en energía útil. Son los centros metabólicos donde convergen y se integran las rutas anabólicas y catabólicas, gracias al continuo diálogo que establece con el núcleo, enviando señales que activan los programa de expresión de los genes para adaptar la función mitocondrial a las necesidades celulares de cada momento, se podría decir que la mitocondria es crítica en el difícil balance entre la vida y la muerte celular. (*Umut and J.A. Enriquez 2015*)

### **MITOCONDRIA: ESTRUCTURA, FUNCIÓN**

La mitocondria es un orgánulo subcelular, de forma y número variable según el tipo de tejido y el estado metabólico celular, que está presente en todas las células eucariotas, con algunas excepciones como los eritrocitos maduros y algunos protozoos (*Cavalier-Smith 1987*).

La mitocondria se compone de dos membranas la externa y la interna. La membrana externa que separa a la mitocondria del citoplasma, es una bicapa lipídica con canales de porina, que hacen que esta membrana sea permeable, permitiendo el paso de moléculas menores de 10 kDa, y el paso de moléculas hidrofílicas a través de ella. Debido a la poca selectividad de la membrana externa, el espacio intermembrana es químicamente similar al citoplasma.

Sin embargo, la membrana interna, que define el espacio intermembrana y la matriz mitocondrial, es mucho más impermeable debido a su alto conte-

nido en cardiolipina. Esta impermeabilidad, necesaria para la generación del gradiente de protones, impide el paso de iones, por lo que la entrada de proteínas, sustratos e iones a la mitocondria depende de la presencia de proteínas de transporte específicas, que aprovechan el gradiente de protones y de ATP para llevar a cabo sus funciones. (*Szewczyk y Wojtczak, 2002*)

La membrana interna presenta un gran número de invaginaciones para aumentar la superficie y permitir la inclusión de un mayor número de proteínas. Recientemente se ha demostrado que estas invaginaciones, denominadas crestas, poseen una composición diferente con respecto al resto de la membrana interna. En las crestas es donde realmente se sitúan los complejos del sistema de generación de energía, mientras que en el resto de la membrana interna se localiza la maquinaria de importe. La diferente distribución proteica pone de manifiesto, que las crestas y la membrana interna mitocondrial son distintos subcompartimentos funcionales. (*Wurm and Jakobs 2006*).

En la matriz mitocondrial se localizan: (I) las moléculas de mtDNA, (II) los ribosomas encargados de la traducción de las proteínas codificadas en dicho genoma, (III) las proteínas necesarias para su replicación y transcripción, (IV) así como el resto de proteínas implicadas en los procesos metabólicos que tienen lugar en el interior de la mitocondria y que están codificadas en el DNA nuclear, por lo que deben ser traducidas en el citoplasma celular, para ser importadas posteriormente al interior de la mitocondria. (*Attardi and Schatz, 1988*).

En la membrana interna está localizada la Cadena de Transporte de Electrones (CTE), que junto a la ATP sintasa constituye la Fosforilación Oxidativa, Respiración celular o sistema OXPHOS, y es la encargada de oxidar a los nutrientes para extraer la energía y transformarla en energía útil que permite a las células construir su propia estructura y realizar trabajo químico, osmótico, mecánico y eléctrico.

Es, posiblemente, el sistema celular mejor conocido desde el punto de vista bioquímico, genético, molecular y estructural, no solo por ser el sitio donde se produce aproximadamente el 90 % de la energía celular, sino también porque regula el estado redox de la célula, participa en la señalización celular, en la muerte celular programada (apoptosis), adaptando a las células a la disponibilidad de sustratos, regulando las más importantes rutas metabólicas. A pesar del profundo conocimiento que se tiene de esta cadena, algunos aspectos de su mecanismo molecular son aún desconocidos. Hasta hace muy pocos años, había dos modelos que intentaban explicar su funcionamiento. Uno, llamado **“MODELO SOLIDO”** fue descrito en 1955 por el grupo de *Chance* (*Chance, B. et al. 1955*) y propone que los complejos multiproteicos están todos unidos formando una estructura supramolecular, llamada respirasoma, donde los electrones fluyen entre los complejos como una canalización de sustrato haciendo



mas eficiente su transporte. En 1986 el grupo de Hackenbroock (*Hackembrock et al 1986*). describió que los complejos multiproteicos están embebidos y moviéndose en la membrana interna de la mitocondria y que la transferencia de electrones entre ellos se produce por colisiones al azar. Este modelo, llamado **MODELO FLUIDO** fue ampliamente aceptado y es el que explican todos los libros de texto. Actualmente ambos modelos están siendo muy debatidos por no responder a muchas evidencias experimentales, y porque no hay pruebas convincentes de su funcionamiento in vivo.

En el año 2008 desde nuestro grupo propusimos otro modelo llamado **“PLASTICITY MODEL” (MODELO DE PLASTICIDAD)**, (*Acin-Pérez, R. et al 2008*) un modelo mucho mas dinámico donde los complejos se asocian en muchas y variadas combinaciones dependiendo de las necesidades energéticas celulares, respondiendo a las objeciones funcionales que se plantean a los dos modelos anteriores, a los que integra como casos extremos del funcionamiento de la cadena.

La capacidad de aprovechar la energía liberada por oxidación de los nutrientes y canalizarla en trabajo biológico es una propiedad de los seres vivos, y tiene lugar en la mitocondria, por lo que es conocida como la **“CENTRAL ENERGETICA CELULAR”**, ya que, consumiendo glucosa y oxígeno, y trabajando a presión y temperatura constantes (1atm y 37°C) puede llegar a producir 200 moles diarios de ATP ( $ADP + P_i + \text{energía} = ATP$ ) lo que supone 100 kg diarios, sin dejar productos de desecho (solo  $CO_2$  y  $H_2O$ ). Sin embargo, el ser humano vive en un equilibrio dinámico y no cambia de peso ni composición, por lo que todo el ATP es consumido al instante, ( $ATP = ADP + P_i + \text{energía}$ ) salvo una cantidad insignificante que se almacena. Este ciclo ADP-ATP se repite 2.000 veces al día

La cantidad de energía libre que se produce en la oxidación completa de la glucosa hasta  $CO_2$  y  $H_2O$  (respiración y/o combustión) es de  $\Delta G^{\circ} = -686Kcal$ . La variación de energía libre, al ser una función de estado, depende de los reactivos y de los productos de la reacción, indistintamente del camino recorrido, por lo que la oxidación completa de glucosa en las células, que transcurre por no menos de 20 etapas enzimáticas en las que participan varias rutas metabólicas (glucolisis, ciclo de Krebs y CTE), así como varios compartimentos celulares (citoplasma, membranas y matriz mitocondrial), produce la misma cantidad de energía libre que su combustión en una bomba calorimétrica a  $CO_2$  y  $H_2O$ , proceso que tiene lugar en una sola etapa.

La primera etapa de la oxidación de los alimentos tiene lugar en el citoplasma, donde la glucosa se transforma en dos moléculas de piruvato, en una secuencia de 10 reacciones catalizadas enzimáticamente, que se conoce como glucolisis anaerobia, liberando 46 Kcal; parte de esta energía se conserva en forma de 2ATP y 2NADH.

El piruvato formado, que aún lleva la mayor parte de la energía libre de la glucosa, penetra en la mitocondria por un transportador específico, y se transforma en acetil-CoA. Los electrones del NADH también penetran en la mitocondria por medio de un sistema de lanzaderas, que junto con los producidos en el Ciclo de Krebs (*Krebs 1970*) al oxidar el Acetil-CoA, alimentaran a la cadena de transporte de electrones.

Los electrones procedentes del NADH son transportados secuencialmente mediante una serie de reacciones redox a través del complejo I, la ubiquinona, el complejo III, el citocromo c, para llegar finalmente al complejo IV, donde se los cederá al oxígeno molecular generando H<sub>2</sub>O. De forma alternativa, los electrones del FADH<sub>2</sub>, producto final de la succinato deshidrogenasa o complejo II, y de otras enzimas como la glicerol-3-P deshidrogenasa, la ETF-ubiquinona oxidorreductasa (primera enzima de la β-Oxidación de los ácidos grasos) o la dihidroorotato deshidrogenasa (enzima implicada en la biosíntesis de pirimidinas), pasan a la ubiquinona y son canalizados mediante el complejo III, citocromo c y complejo IV para que lleguen hasta la reducción del oxígeno molecular.

Acoplado al transporte de electrones, los complejos I, III y IV de la cadena, bombean protones desde la matriz mitocondrial hacia el espacio intermembrana, generando un potencial de membrana que es aprovechado por la ATP sintasa o complejo V para impulsar la síntesis de ATP a partir de ADP y fosfato inorgánico, cuando los protones reingresan a la matriz mitocondrial a través de dicho complejo, completándose así el proceso de fosforilación oxidativa. (*Mitchell and Moyle, 1967*)

Estos cinco complejos respiratorios están formados por aproximadamente 100 proteínas, de las cuales solo 13 están codificadas en el mtDNA, el resto lo están en el núcleo. Así la biogénesis de la mitocondria constituye un caso único en la célula animal por encontrarse bajo el control de los dos sistemas genéticos celulares (el nuclear y el mitocondrial) que deben actuar de forma coordinada. (*Goffart and Wiesner, 2003; Kelly and Scarpulla, 2004*).

La investigación acerca de las mitocondrias, del mtDNA, del ensamblaje de los distintos complejos del sistema OXPHOS, y su organización en la membrana interna mitocondrial, se ha visto impulsada desde finales de los años 80 por el creciente número de enfermedades provocadas por mutaciones, tanto en el mtDNA como en el DNA nuclear, que afectan al sistema OXPHOS, (*Borisov, 2004; DiMauro and Schon, 2003; Wallace, 1999; Zeviani and Antozzi, 1997*), la posible participación de este genoma en el proceso de envejecimiento (*Chomyn and Attardi, 2003; Hance et al., 2005; Hofhaus et al., 2003; Trifunovic, 2006*) en la carcinogénesis (*Carew and Huang, 2002; Cuezva et al., 2002; Gallardo et al., 2006; Petros et al., 2005*) así como la implicación de la mitocondria en el proceso de apoptosis (*Green and Kroemer,*

2004); la influencia de la variabilidad del mtDNA en la farmacogenómica (Pacheu-Grau et al. 2010) y en la respuesta a fármacos (Moreno-Losbuertos et al. 2006).

### **CARACTERÍSTICAS DEL mtDNA**

El DNA mitocondrial está localizado en la matriz mitocondrial. Es una molécula circular de doble cadena, sin intrones (secuencias no codificables) [(Anderson et al., 1981); (Montoya et al., 1981); (Ojala et al., 1981)] que se replica y transcribe en la matriz mitocondrial. El mtDNA de mamíferos contiene información para 37 genes: 24 RNAs necesarios para su síntesis (2 rRNAs ribosómicos y 22 tRNAs de transferencia) y 13 proteínas, que son subunidades de complejos del sistema de fosforilación oxidativa: 7 subunidades (ND1, 2, 3, 4L, 4, 5, 6) de los 44 polipéptidos del complejo I (NADH deshidrogenasa), una subunidad (citocromo b, CYB) de los 11 polipéptidos del complejo III (ubiquinol-citocromo c oxido-reductasa), 3 subunidades (COI, II, III) de los 14 polipéptidos del complejo IV (citocromo c oxidasa) y 2 subunidades (ATPasa 6 y ATPasa 8) de las 11 proteínas del complejo V (ATP sintasa).

Posee un código genético propio que difiere ligeramente del código genético universal (Barrell et al., 1979). Así por ejemplo, el codón UGA, que en la mitocondria codifica al aminoácido triptófano, en el código genético nuclear es una señal de parada de síntesis de proteínas

En mamíferos, cada mitocondria contiene entre 2 y 10 copias de mtDNA y cada célula, alrededor de  $10^3$  y  $10^4$  copias, dependiendo del tejido y de las necesidades energéticas de la célula. Además, es posible la existencia de varias formas alélicas del mtDNA en un mismo individuo, pudiendo diferir su proporción relativa dependiendo del tejido. (Holt et al., 1988). Dentro de un mismo individuo pueden encontrarse distintos grados de heteroplasmia en los diferentes tejidos y suele darse la necesidad de alcanzar un umbral de porcentaje de DNA mutado para que empiecen a manifestarse los efectos patológicos de la mutación. (Mazat et al., 2001)

Se transmite por herencia materna, no mendeliana. (Giles et al., 1980; Sutovsky et al., 1999).

El mtDNA no es manipulable, por lo que no se pueden transformar las mitocondrias, ni hacer mutagénesis dirigida para alterar un gen determinado y además el mtDNA de una especie es incompatible con el nDNA de otra especie diferente. Estas características dificultan el estudio de genética funcional del mtDNA.

## **ESTUDIOS DE GENÉTICA FUNCIONAL: MODELOS CELULARES Y ANIMALES**

La generación de modelos celulares y animales, para el estudio de genética funcional y patologías mitocondriales, se ha visto frenada por la imposibilidad de transformar mitocondrias y de mutar selectivamente un gen (mutagénesis dirigida). Además, el elevado número de copias (1.000-10.000) de mtDNA en células de mamífero, dificulta que una mutación en una molécula entre miles de copias produzca un fenotipo observable. Efecto umbral.

Para realizar estudios de patologías mitocondriales y de genética funcional es necesario disponer de células y animales de experimentación con todo el mtDNA mutado (en homoplasmia), o con un grado de heteroplasmia, suficiente para producir un fenotipo apreciable.

En nuestro grupo hemos diseñado y puesto a punto una nueva metodología para obtener células y, eventualmente, ratones en homoplasmia, con todo o gran parte de su mtDNA mutado. (*Acin-Pérez et al. 2004; Bayona-Bafaluy et al. 2008*).

Para obtener células en homoplasmia, se tratan las células con el mutágeno tri-metil-psoraleno (TMP) y se irradian con luz ultravioleta, para producir mutaciones al azar. Posteriormente, se tratan con Bromuro de Etidio, que es un agente que impide la replicación del DNA (siendo más sensible el mtDNA que el nuclear), con objeto de reducir el número de copias del mtDNA, (en situaciones ideales a una copia por célula). Se siembran (en placas de 96 pocillos) en paralelo y por duplicado en un medio con glucosa y en otro con galactosa; aquellas células que mueran, o crezcan con dificultad en galactosa, es porque tienen la cadena dañada y al no ser fermentable no pueden obtener ATP por la vía glucolítica. Recogemos su duplicado del medio de glucosa, en el que viven gracias al ATP obtenido en la glucolisis, y las crecemos en una placa petri. Una posterior expansión clonal origina una nueva línea celular, donde la mutación estará en homoplasmia (todos los mtDNA iguales) o en un grado de heteroplasmia, suficiente para producir un fenotipo identificable. Por último se procede a la caracterización y selección de los mutantes. Estas células nos servirán como dadoras de mitocondrias.

A las células obtenidas con las mitocondrias mutadas en homoplasmia se les elimina el núcleo y las usamos como dadoras de mitocondrias. Se fusionan con otras células a las que se les ha suprimido el mtDNA, (células  $\rho^0$ ), que sirven como donadoras de núcleo, así obtenemos unas células transmitocondriales con nDNA intacto y mtDNA portando la mutación que nos interesa estudiar.

Para obtener modelos animales de patologías mitocondriales, nos basamos en que las mitocondrias solo se heredan por vía materna. A las líneas celulares de ratón portando una determinada mutación en su mtDNA, se les elimina el

núcleo, y sirven como donadoras de mitocondrias. Se fusionan con células ES (células madre embrionarias XX, femeninas) tratadas con Rodamina 6G que elimina el mtDNA, por lo que sirven como donadoras de núcleo. Las células así transformadas se inyectan en blastocisto y se reimplantan en ratonas pseudo-gestantes. La descendencia de estas ratonas, portarán la mutación mitocondrial deseada.

Con esta metodología hemos conseguido la mayor colección de mutantes en el mtDNA, ya que tenemos células con mutaciones en todos los complejos respiratorios pero, de momento, no hemos conseguido transmisión estable de mutaciones en el mtDNA en ratones.

### **MUTACIONES EN CITOCROMO B**

Una de las particularidades de muchos de los defectos genéticos que afectan a genes del sistema OXPHOS en humanos, es la variabilidad en las manifestaciones fenotípicas a nivel sintomático, bioquímico, molecular y genético. (*DiMauro and Schon 2003*). En particular la descripción de defectos combinados en los complejos I+III, en pacientes que solamente presentan un defecto genético en el complejo III (Ubiquinol citocromo c reductasa). Este fenómeno no es simétrico, ya que en pacientes con un defecto genético en el complejo I, éste nunca está asociado a defectos en el complejo III.

La mayoría de los defectos genéticos asociados al complejo III, hasta la fecha, son debidos a mutaciones en el citocromo b, (*Andreu et al 1998, 1999; Lamantea 2002*) que es el único gen codificado en el mtDNA y que es esencial para el ensamblaje del complejo III.

En la literatura hay descritos pacientes con mutaciones en el complejo III con dos fenotipos diferentes, a saber: pacientes de tipo A sin actividad del complejo III pero con actividad en el complejo I y pacientes del tipo B sin actividad del complejo III, y tampoco del complejo I.

Para investigar la causa molecular de estas observaciones hemos usado modelos celulares de ratón y de humano, (*Bruno et al 2003*), deficientes del complejo III, que presentan mutaciones en el citocromo b. Las células de ratón, tienen una mutación que causa un cambio de base en la posición G15263A, que al traducirse a proteína cambia un glutámico por lisina en la posición 373 (E373K), localizada en el extremo carboxi-terminal de la proteína. Para este estudio, hemos empleamos células de ratón L929 a las que se les indujo mutagénesis al azar, como hemos explicado anteriormente. Se seleccionan las células mutadas en el citocromo b (a estas células las llamamos células A22). Puesto que la mutación se ha realizado al azar, es posible que el daño en el sistema OXPHOS pueda ser debido a una alteración del DNA nuclear. Para

descartar esta posibilidad transferimos las mitocondrias de A22 a una célula receptora a la que se le han eliminado las mitocondrias, pero tienen el núcleo intacto, a estas células las llamamos FA22. Por electroforesis del mtDNA tratado con la enzima de restricción BbsI, concluimos que el defecto genético era debido a la mutación G15263A en el mtDNA. Esta mutación no aparece en la línea celular original L929.

Para ver si nuestras células A22 y FA22 mimetizaban alguno de estos fenotipos, A o B, analizamos independientemente, en mitocondrias aisladas, la actividad del complejo I y la actividad del complejo II, (complejo de origen nuclear, por lo que no le afecta la alteración mitocondrial), y la normalizamos frente a la actividad de citrato sintasa (una enzima mitocondrial que participa en el ciclo de Krebs de origen nuclear). Observamos que la actividad del complejo I estaba severamente afectada en las líneas A22 y FA22, mientras que no se modificaba en los controles isogénicos. Asimismo, y como era de esperar la actividad del complejo II no está alterada en ninguna línea. Si analizamos por electroforesis las células A22 y FA22 y las muestras de músculo del paciente observamos que se comporta con un fenotipo de tipo B, es decir, al no ensamblar el complejo III, por llevar una mutación, tampoco ensambla el complejo I.

Con objeto de discernir si la falta de actividad del complejo I era debido a la presencia física del complejo III, o a la falta de actividad de dicho complejo, tratamos las células con antimicina y/o mixotiazol, dos inhibidores de la actividad del complejo III. En ambos casos observamos que no hay actividad del complejo III pero el complejo I no se ve alterado ni siquiera después de dos semanas de tratamiento. Este hecho nos confirma que el ensamblaje y la actividad del complejo I depende de la presencia física del complejo III, y no de su actividad.

**Estos resultados no son compatibles con el modelo fluido.**

## **SUPERCOMPLEJOS RESPIRATORIOS**

En el año 2000 el grupo de Schagger (*Schagger and Pfeiffer, 2000*) consiguió purificar asociaciones estables de complejos respiratorios, y reformuló el modelo sólido proponiendo que los complejos respiratorios están organizados en grandes estructuras que llamó “supercomplejos respiratorios” que permitían un más eficiente transporte de electrones. La única evidencia que apoyaba la existencia de los supercomplejos respiratorios era la comigración en BNGE y que posteriormente, el grupo de Dudkina (*Dudkina et al., 2005*), los separó por centrifugación en gradiente de sacarosa. El principal obstáculo para aceptar la teoría de los supercomplejos, era la falta de evidencia de su función “in vivo”.

Además si para el estudio de los supercomplejos hay que desorganizar la membrana con detergentes, con objeto de extraerlos, había dudas razonables de que su formación fuera un artefacto experimental proveniente del tratamiento con detergentes, ya que solo aparecen usando digitonina. Para despejar esta incógnita, en nuestro grupo tratamos las mitocondrias aisladas con varios detergentes, y a distintas concentraciones, y observamos que la formación de los supercomplejos no era dependiente del detergente empleado para su extracción.

Si los supercomplejos son verdaderas estructuras funcionales “in vivo” deben de cumplir los siguientes requisitos:

- (I) Su formación debe ser posterior a la formación de los complejos individuales, es decir deben cumplir una cinética de formación.
- (II) Los supercomplejos deben contener CoQ y citocromo c.
- (III) Deben transferir electrones entre ellos y entre el NADH y el O<sub>2</sub>.

Para comprobar la primera condición, realizamos un experimento de marcaje metabólico, (experimento de pulso-caza); para ello incubamos las células con un aminoácido marcado radiativamente (35S-metionina); las proteínas sintetizadas in vitro incorporarán el aminoácido radiactivo, y se harán visibles al revelar las placas de la electroforesis. Transcurrida una hora de incubación, se retira el medio radiactivo y se sustituye por metionina sin marcar y se vuelve a incubar durante 24 horas, y tomando muestras a distintos tiempos podemos visualizar la cinética de formación de los supercomplejos. Efectivamente, a medida que transcurre el tiempo, van apareciendo las bandas de los supercomplejos.

La detección del citocromo c y del CoQ se realiza por dos técnicas diferentes. El citocromo c se detecta por inmunodetección en una electroforesis bidimensional de las bandas de supercomplejos, y vemos que aparece en todas las bandas donde hay asociación de complejos individuales. Mientras que la presencia del CoQ se detecta por el tiempo de retención por HPLC (High Performance Liquid Chromatography) y aparece en la banda que se ha analizado, que es la que tiene todos los complejos.

La última condición que deben cumplir las asociaciones de los complejos es la de ser capaces de transferir electrones entre ellos y al O<sub>2</sub>. Para confirmarla, extraemos de un gel electroforético de BN la banda 3, que porta los cuatro complejos, y medimos el consumo de oxígeno por método polarográfico. Para ello la ponemos a respirar en un electrodo de oxígeno (electrodo de Clark), y se observa que cuando ponemos NADH empieza a consumir oxígeno, que se paraliza al añadir rotenona, que es un inhibidor específico del complejo I. Al añadir succinato como dador de electrones que entra al nivel del complejo II,

se vuelve a consumir oxígeno, hasta que se añade antimicina que es un inhibidor del complejo III. Si en ese momento añadimos al medio TMPD (tetra metil phenilén diamina) que es un dador de electrones del complejo IV, empieza otra vez a consumir oxígeno hasta que se añade cianuro potásico (CNK), que compite con el oxígeno por captar electrones; en ese momento se detiene la respiración. Con ello demostramos que los complejos extraídos de un gel son funcionales y transportan electrones hasta el oxígeno.

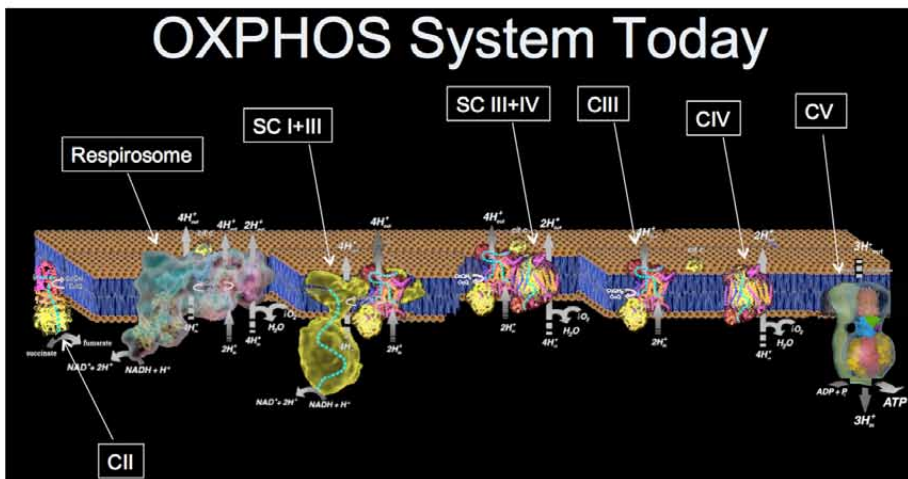
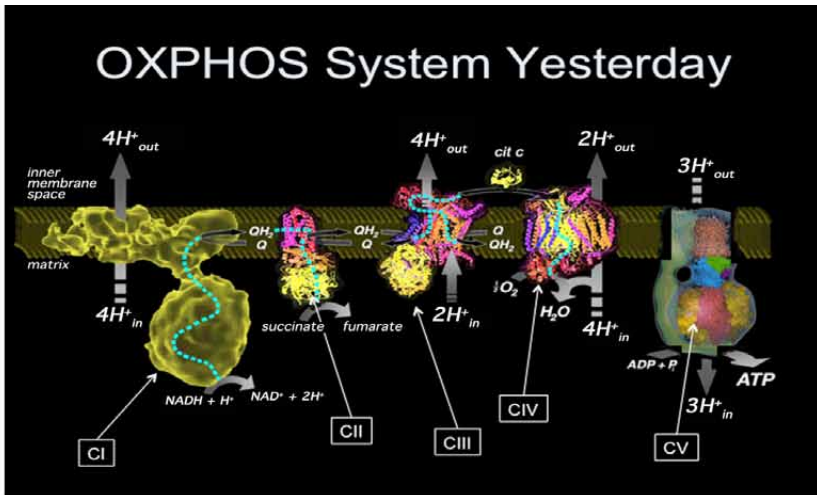
Con objeto de confirmar nuestro modelo, estudiamos, en fibroblastos de ratón, las interacciones entre los complejos respiratorios CI + CIII y CIII + CIV. (*Lapuente-Brun et al. 2013*). Las mitocondrias preparadas en presencia de digitonina, que preserva la asociación de SC, fue posteriormente fraccionada por electroforesis BNGE y las bandas sometidas a métodos proteómicos. Al analizar la interacción entre los complejos identificamos una proteína, la citocromo oxidasa subunidad VIIa2-like (Cox 7a2l), que está presente solo en el SC CIII + CIV pero no en los complejos individuales.

Paralelamente y de forma fortuita descubrimos que la proteína Cox7a2l estaba mutada en algunas líneas celulares de diferentes estirpes de ratón, y aparecía con 6 nucleótidos menos (2 aminoácidos), por lo que existe una forma corta de 111 aminoácidos, que permite la asociación entre CIII y CIV, mientras que la otra forma larga de 113 aminoácidos, sí da lugar a la asociación, de ahí que a esta proteína que tiene como función ensamblar el SC CIII + CIV le diéramos el nombre de SCAFI (SuperComplex Assembly Factor I).

La presencia de SCAFI define tres poblaciones de CIV: uno ensamblado con CI+CIII, que recibe electrones desde NADH y que es un respirasoma; otro ensamblado solo con CIII que solo recibe electrones desde el FAD; y otro libre, que puede recibir electrones desde cualquier sustrato. Además comprobamos que al incubar las mitocondrias respirando con sustratos que producen NADH (piruvato mas malato) y FADH (succinato), el efecto es aditivo en aquellas mitocondrias que proceden de células que tienen la forma larga de SCAFI. Esto no sucede cuando proceden de células con la forma corta y, por tanto no pueden ensamblar CIII y CIV. Esta posibilidad dinámica de ensamblaje, permite a las células adaptarse a diferentes fuentes de carbono. Un mayor conocimiento de la regulación de esta adaptación nos ayudaría a comprender mejor las patologías mitocondriales.



El modelo que proponemos sería:



**BIBLIOGRAFÍA**

- Acín-Pérez, R., Bayona-Bafaluy, M.P., Fernandez-Silva, P., Moreno-Loshuertos, R., Perez-Martos, A., Bruno, C., Moraes, C.T., and Enriquez, J.A. (2004). Respiratory complex III is required to maintain complex I in mammalian mitochondria. *Mol Cell* 13,805-815.
- Acín-Pérez, R., Fernandez-Silva, P., Peleato, M.L., Perez-Martos, A., and Enriquez, J.A. (2008) Respiratory active mitochondrial supercomplexes. *Mol Cell* 32, 529-539.
- Anderson, S., Bankier, A.T., Barrell, B.G., de Bruijn, M.H., Coulson, A.R., Drouin, J., Eperon, I.C., Nierlich, D.P., Roe, B.A., Sanger, F., et al. (1981). Sequence and organization of the human mitochondrial genome. *Nature* 290, 457-465.
- Andreu, A.L., Bruno, C., Shanske, S., Shtilbans, A., Hirano, M., Krishna, S., Hayward, L., Systrim, D.S., Brown, R.H., Jr and Di Mauro, S. (1998). Missense mutation in the mtDNA cytochrome b gene in a patient with myopathy. *Neurology* 51, 1444-1447.
- Andreu, A.L., Hanna, M.G., Reichmann, H., Bruno, C., Penn, A.S., Tanji, K., Pallotti, F., Iwata, S., Bonilla, E., Lach, B., et al. (1999). Exercise intolerance due to mutations in the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 341, 1037-1044.
- Attardi, G., and Schatz, G. (1988). Biogenesis of mitochondria. *Annu Rev Cell Biol* 4, 289-333.
- Barrell, B.G., Bankier, A.T., and Drouin, J. (1979). A different genetic code in human mitochondria. *Nature* 282, 189-194.
- Bayona-Bafaluy, M.P., Acin-Perez, R., Mullikin, J.C., Park, J.S., Moreno-Loshuertos, R., Hu, P., Pérez-Martos, A., Fernandez-Silva, P., Bai, Y., and Enriquez, J.A. (2003). Revisiting the mouse mitochondrial DNA sequence. *Nucleic Acids Res* 31, 5349-5355.
- Bayona-Bafaluy, M.P., Movilla, N., Perez-Martos, A., Fernandez-Silva, P., and Enriquez, J.A. (2008). Functional genetic analysis of the mammalian mitochondrial DNA encoded peptides: a mutagenesis approach. *Methods Mol Biol* 457, 379-390.
- Borisov, V.B. (2004). Mutations in respiratory chain complexes and human diseases. *J Biochem* 53, 34-40.
- Bruno, C., Santorelli, F.M., Assereto, S., Tonoli, E., Tessa, A., Traverso, M., Scapolan, S., Bado, M., Tedeschi, S., and Minetti, C. (2003). Progressive exercise intolerance associated with a new muscle-restricted nonsense mutation (G142X) in the mitochondrial cytochrome b gene. *Muscle Nerve* 28, 508-511.
- Cavalier-Eukaryotes with no mitochondria. *Nature* 326, 332-333. Smith, T. (1987).
- Carew, J.S., and Huang, P. (2002). Mitochondrial defects in cancer. *Mol Cancer* 1, 9.
- Chance, B; G.R. Williams, Williams F., Holmes and Joseph Higgins (1955). Respiratory enzymes in Oxidative Phosphorylation, V. A mechanism for Oxidative Phosphorylation. *J. Biol. Chem.* 217, 439-452
- Cuezva, J.M., Krajewska, M., de Heredia, M.L., Krajewski, S., Santamaria, G., Kim, H., Chomyn, A., and Attardi, G. (2003). MtDNA mutations in aging and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 304, 519-529.
- D'Aurelio, M., Gajewski, C.D., Lenaz, G., and Manfredi, G. (2006). Respiratory chain supercomplexes set the threshold for respiration defects in human mtDNA mutant cybrids. *Hum Mol Genet* 15, 2157-2169.

DiMauro,S.and Schon, E.A.(2003).Mitochondrial respiratory-chain diseases.N Engl J Med 348, 2656-2668.

Dudkina, N.V., Eubel, H., Keegstra, W., Boekema, E.J., and Braun, H.P. (2005). Structure of a mitochondrial supercomplex formed by respiratory-chain complexes I and III. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 3225-3229.

Gallardo, M.E., Moreno-Loshuertos, R., Lopez, C., Casqueiro, M., Silva, J., Bonilla, F.,Rodriguez de Cordoba, S., and Enriquez, J.A. (2006). m.6267G>A: a recurrent mutation in the human mitochondrial DNA that reduces cytochrome c oxidase activity and is associated with tumors. *Hum Mutat* 27, 575-582.

Giles, R.E., Blanc, H., Cann, H.M., and Wallace, D.C. (1980). Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A* 77, 6715-6719.

Goffart, S., and Wiesner, R.J. (2003). Regulation and co-ordination of nuclear gene expression during mitochondrial biogenesis. *Exp Physiol* 88, 33-40.

Green, D.R.and Kroemer,G.(2004).The pathophysiology of mitochondrial cell death. *Science* 305, 626-629.

Hackenbrock CR, Chazotte B, Gupte SS.(1986) The random collision model and a critical assessment of diffusion and collision in mitochondrial electron transport.*J Bioenerg Biomembr.* Oct;18(5):331-68.

Hance, N., Ekstrand, M.I., and Trifunovic, A. (2005). Mitochondrial DNA polymerase gamma is essential for mammalian embryogenesis. *Hum Mol Genet* 14, 1775-1783.

Hofhaus, G., Berneburg, M., Wulfert, M., and Gattermann, N. (2003). Live now--pay by ageing: high performance mitochondrial activity in youth and its age-related side effects. *Exp Physiol* 88, 167-174.

Holt, I.J., Harding, A.E., and Morgan-Hughes, J.A. (1988). Deletions of muscle mitochondrial DNA in patients with mitochondrial myopathies. *Nature* 331, 717-719.

Inman, D. M., Sappington, R. M., Horner, P. J., and Calkins, D. J. (2006). Quantitative correlation of optic nerve pathology with ocular pressure and corneal thickness in the DBA/2 mouse model of glaucoma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 47, 986- 996.

Kelly, D.P., and Scarpulla, R.C. (2004). Transcriptional regulatory circuits controlling mitochondrial biogenesis and function. *Genes Dev* 18, 357-368.

Krebs, H.A. (1970). The history of the tricarboxylic acid cycle. *Perspect Biol Med* 14, 154-170.

Kroemer, G,and Reed,J.C.(2000).Mitochondrial control of cell death.*Nat Med* 6,513-519.

Lamantea, E., Carrara, F., Mariotti, C., Morandi, L., Tiranti, V., and Zeviani, M. (2002). A novel nonsense mutation (Q352X) in the mitochondrial cytochrome b gene associated with a combined deficiency of complexes I and III. *Neuromuscul Disord* 12, 49-52.

Lapuente-Brun, Esther Raquel Moreno-Loshuertos, Rebeca Acín-Pérez, Ana Latorre-Pellicer, Carmen Colás, Eduardo Balsa, Ester Perales-Clemente, Pedro M. Quirós,Enrique Calvo, M. A. Rodríguez-Hernández, Plácido Navas, Raquel Cruz, Ángel Carracedo, Carlos López-Otín, Acisclo Pérez-Martos, PatricioFernández-Silva, Erika Fernández-Vizarra and José Antonio Enríquez. (2013). Assembly of respiratory supercomplexes determines electron flux in the mitochondrial electron transport chain. *Science* (en prensa).

- Mazat, J.P., Rossignol, R., Malgat, M., Rocher, C., Faustin, B., and Letellier, T. (2001). What do mitochondrial diseases teach us about normal mitochondrial functions..that we already knew: threshold expression of mitochondrial defects. *Biochim Biophys Acta* 1504, 20-30.
- Mitchell,P.and Moyle,J.(1967). Chemiosmotic hypothesis of oxidative phosphorylation. *Nature* 213,137-139.
- Montoya, J., Ojala, D., and Attardi, G. (1981). Distinctive features of the 5 terminal sequences of the human mitochondrial mRNAs. *Nature* 290, 465- 470.
- Moreno-Loshuertos, R., Acín-Pérez, R., Fernandez-Silva, P., Movilla, N., Perez-Martos,A., Rodriguez de Cordoba, S., Gallardo, M.E., and Enriquez, J.A. (2006). Differences in reactive oxygen species production explain the phenotypes associated with common mouse mitochondrial DNA variants. *Nat Genet* 38, 1261-1268.
- Ojala, D., Montoya, J., and Attardi, G. (1981). tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature* 290, 470- 474.
- Pacheu-Grau David, Aurora Gómez-Durán, Manuel J. López-Pérez, Julio Montoya, Eduardo Ruiz-Pesini. (2010) Mitochondrial pharmacogenomics: barcode for antibiotic therapy. *Drug Discovery Today*. Vol. 15, Issues 1–2, Pages 33–39
- Petros, J.A., Baumann, A.K., Ruiz-Pesini, E., Amin, M.B., Sun, C.Q., Hall, J., Lim, S., Issa, M.M., Flanders, W.D., Hosseini, S.H., et al. (2005). mtDNA mutations increase tumorigenicity in prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 719-724.
- Schagger, H., and Pfeiffer, K. (2000). Supercomplexes in the respiratory chains of yeast and mammalian mitochondria. *Embo J* 19, 1777-1783.
- Sutovsky, P., Moreno, R.D., Ramalho-Santos, J., Dominko, T., Simerly, C., and Schatten, G. (1999). Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature* 402, 371-372.
- Szewczyk A, Wojtczak L. (2002) Mitochondria as a pharmacological target. *Pharmacol Rev. Mar*;54(1):101-27.
- Trifunovic, A. (2006). Mitochondrial DNA and ageing. *Biochim Biophys Acta* 1757, 611-617.
- Umut Cagin, and J.A. Enriquez (2015). The complex crosstalk between mitochondria and the nucleus: Wat goes in between?. *Int. J. Biochem. Cell Biology* (Feb. 7)
- Wallace, D.C.(1999).Mitochondrial diseases in man and mouse.*Science* 283, 1482- 1488.
- Wallace, D.C., Brown, M.D., and Lott, M.T. (1999). Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease. *Gene* 238, 211-230.
- Wurm CA, Jakobs S. (2006) Differential protein distributions define two subcompartments of the mitochondrial inner membrane in yeast. *FEBS Lett. Oct* 16;580(24):5628-34.
- Zeviani, M., and Antozzi, C.(1997).Mitochondrial disorders. *Mol Hum Reprod* 3,133148.

SESIÓN CIENTÍFICA CONJUNTA  
REAL ACADEMIA DE MEDICINA Y AULA MONTPELLIER  
DEL DÍA 19 DE MARZO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

DESCIFRADO DEL GENOMA  
EN EL LINFOMA HUMANO

POR EL  
PROF. DR. D. ELÍAS CAMPO GÜERRI  
DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL CLINIC DE  
BARCELONA.

CATEDRÁTICO DE ANATOMÍA PATOLÓGICA  
DE LA UNIVERSIDAD DE BARCELONA.  
JEFE DE LA UNIDAD DE HEMATOLOGÍA  
DEL HOSPITAL CLÍNIC DE BARCELONA.

PRESENTADO POR EL  
ILMO. SR. D. LUÍS MIGUEL TOBJAS ASENSIO  
SECRETARIO GENERAL Y ACADÉMICO DE NÚMERO

\*Publicado en tomo aparte.



SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 16 DE ABRIL DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

SANIDAD MILITAR.  
CUARENTA AÑOS DE MEDICINA  
LOGÍSTICO OPERATIVA

POR EL  
EXCMO. SR. D. JESÚS RUBIO IZQUIERDO  
GENERAL MÉDICO DIRECTOR  
DEL HOSPITAL GENERAL DE LA DEFENSA DE ZARAGOZA

PRESENTADO POR EL  
ILMO. SR. D. FRANCISCO JOSÉ CARAPETO  
Y MÁRQUEZ DE PRADO  
VICEPRESIDENTE Y ACADÉMICO DE NÚMERO





Exmo. Sr. Presidente de la RAMZ  
Exmos e Ilmos Señoras y Señores Académicos  
Dignísimas Autoridades  
Compañeros y Amigos

Tengo la satisfacción de presentar hoy en esta Real Academia de Medicina de Zaragoza, al **Exmo. Sr. D. Jesús Rubio Izquierdo, General Medico Director del Hospital General de la Defensa de Zaragoza**, quien nos hablará de un tema de especial interés en la actualidad, ***“La Sanidad Militar: Organización y Medicina Logística Operativa”***.

En mi opinión, es este un aspecto de la Medicina de gran relevancia para nosotros en este ambiente de la Real Academia de Medicina, porque aunque inmersos e interesados por todos los aspectos generales de la Medicina y la Sanidad en sus múltiples facetas, que son tratados a lo largo de las numerosas sesiones que se celebran en esta RAM, la Sanidad Militar es un aspecto de nuestra profesión que creo puede ser insuficientemente conocida para nosotros los civiles, especialmente desde hace unos años en que se reformó su organización y gran parte de los aspectos prácticos de su ejercicio, y muy especialmente, una vez que nuestro país entró de lleno en las organizaciones militares y de ayuda sanitaria a nivel supranacional.

El General Don Jesús Rubio Izquierdo, es sin duda, quien por el cargo jerárquico que ocupa, la persona idónea para exponernos los pormenores de esta faceta Medico-Sanitaria desde el punto de vista militar, que hoy ocupa un lugar preeminente tanto en las zonas de conflictos bélicos, como en aquella en las que las circunstancias naturales adversas crean situaciones de compromiso y devastación, en las que nuestra Sanidad Militar, desarrolla una labor encomiable y reconocida internacionalmente, dentro y fuera de nuestras fronteras, con una historia que abarca 60 años y que agrupa a un gran número de figuras que llenan la historia de su desarrollo y prestigio, y que como en otros campos de la medicina, se ha ido mejorando y adaptado a las necesidades del momento.

A nuestro conferenciante de hoy le adorna un currículo pleno de distinciones, que son la traducción de un intenso trabajo a lo largo de los años. Como veremos, algunos de ellos realizados en zonas geográficas conflictivas y situaciones para cuyo desempeño se necesita de una enorme vocación y estoy seguro que también, decisión y valentía.

Don Jesús Rubio, nació en Zaragoza en 1951. Está casado con Dña. Concepción Tomás, de cuyo matrimonio tiene 3 hijas.

Realizó los estudios de Segunda Enseñanza en el **Clg. Calasanz** y después continuó los universitarios en la Facultad de Medicina de Zaragoza, que inició en Octubre 1969, siendo admitido como Alumno Interno Honorario en la Cátedra de Patología General del Profesor Gabriel Guillén hasta el año 1974, en que por oposición entró como Alumno Interno Pensionado en la Cátedra de Dermatología del Prof. Luís Azua.

Los estudios de Medicina los finalizó en el año 1975 y en el 1976 realizó las pruebas para entrar por Oposición en el Cuerpo de Sanidad Militar

**Está en posesión de los títulos de:**

- Licenciado en Medicina y Cirugía por la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza, que obtuvo en Julio de 1975.
- Médico Especialista en Cirugía General
- Médico Especialista Diplomado en Medicina Intensiva
- Licenciado en Bioquímica por la Facultad de Ciencias de la Universidad de Zaragoza.

**La carrera Militar de D. Jesús Rubio**, está también jalonada por la superación de diferentes pruebas, hasta llegar a la relevante situación que ocupa actualmente

- Aprobó la Oposición a Sanidad Militar en Mayo de 1976, ingresando en la Academia General Militar, continuando su educación profesional en la Academia Militar de Sanidad.
- Promovido al empleo de Teniente Médico en Julio del año 1.977, fue destinado al Hospital Militar de Zaragoza para el Servicio de Cirugía General, y al año siguiente, a la Unidad de Cuidados Intensivos del citado Hospital.
- Ascendió al empleo de Capitán Médico en agosto de 1.980 quedando confirmado en su anterior destino y servicio hasta abril de 1.982, que pasó al Grupo Regional de Sanidad Militar nº 5 de Zaragoza.
- En 1.982 y por haber superado el concurso-oposición de especialidades médicas, fue nombrado alumno de la Academia Militar de Sanidad para la especialidad de Medicina Intensiva, realizando la residencia en los hospitales Gregorio Marañón y Hospital Militar Central Gómez Ulla de Madrid.
- En 1.986, una vez finalizada la residencia de la especialidad, se le concede el Diploma de Especialista de Medicina Intensiva, haciéndose cargo

de la Jefatura de la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital General de la Defensa de Zaragoza en Mayo de ese año de 1986.

- En julio de 1.987 es promovido al empleo de Comandante Médico del Cuerpo Militar de Sanidad.
- En julio de 1.997 fue promovido al empleo de Teniente Coronel Médico del Cuerpo Militar de Sanidad.
- En diciembre de 2006 ascendió al empleo de Coronel Médico del Cuerpo Militar de Sanidad.
- En febrero del año 2.011, es destinado al Hospital General de la Defensa (Zaragoza), como Coronel Subdirector del mencionado Hospital.
- Por Real Decreto 1.394 / 2012 de 5 de octubre, S.M. El Rey, le promueve al empleo de General de Brigada Médico del Cuerpo Militar de Sanidad.
- Por Orden 430 / 15. 045 de 8 de octubre de 2.012, por el Ministro de Defensa, es nombrado General Médico Director del Hospital General de la Defensa en Zaragoza.

**El General Rubio Izquierdo está en posesión de numerosas condecoraciones, que paso a resumir:**

- Cruz del Mérito Militar con distintivo blanco (1990).
- Cruz de la Real y Militar Orden de San Hermenegildo (1996).
- Medalla OTAN “Kosovo” (2000).
- Encomienda de la Real y Militar Orden de San Hermenegildo (2001).
- Placa de la Real y Militar Orden de San Hermenegildo (2006).
- Medalla OTAN “Respuesta Solidaria II Apoyo Terremoto Pakistán” (2007).
- Cruz del Mérito Militar con distintivo blanco (2010).
- Gran Cruz de la Real y Militar Orden de San Hermenegildo (2012).
- Medalla al Mérito Profesional concedida por el Excmo. Ayuntamiento de Zaragoza (2014).
- Diploma de reconocimiento de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza. Octubre 2014.

Hay que mencionar también entre su densa actividad Medico-Militar, el haber participado activamente en misiones internacionales: Valgan como ejemplo, la de haber formado parte del equipo quirúrgico en la misión **KNSE IV PETROVEC-FYRON en Kosovo**, entre Junio y Noviembre del año 2.000, así como participar también en la Misión “RESPUESTA SOLIDARIA II”, en apoyo al Terremoto de Pakistán, de Noviembre de 2.005 a Enero 2006.

El ejercicio profesional médico de nuestro conferenciante, ha sido ejercido desde la especialidad fundamental de Medicina Intensiva, especialidad a la que ha dedicado 33 años de vida profesional, antes de acceder a áreas de gestión. Esta especialidad médica, la Medicina Intensiva, viene determinada por la necesidad de agrupar y tratar a los enfermos en situación crítica de una forma diferenciada y más eficaz, lo que se ha transformado hoy en un pilar fundamental de la Medicina en sus aspectos tanto médicos como quirúrgicos.

Tras la exposición de este intencionado breve resumen de su currículum, no creo que quepa duda, de que el General D. Jesús Rubio Izquierdo, es la persona idónea para que nos analice e informe sobre la Sanidad Militar, en estos momentos en los que sus servicios son requeridos dentro y fuera de nuestras fronteras, siempre en situaciones comprometidas y peligrosas, pero cuyo prestigio y bien-hacer ha sido siempre reconocido en todos los ámbitos de actuación tanto nacionales como internacionales.

La relativa corta historia de nuestra Sanidad Militar, como eslabón fundamental en estas situaciones adversas, se remontan al año 1960, en que un fuerte terremoto provocó una enorme catástrofe entre la población marroquí de Agadir, cuyo recuerdo está en la mente de muchos de los aquí presentes, y en cuya ayuda acudieron las Fuerzas Militares Españolas. A partir de ese momento, con criterios que se han ido renovando en el sentido de un mayor grado de organización del Ejército Español y por supuesto de su rama Médico-Sanitaria, han intervenido con una enorme eficacia en numerosos conflictos, en los que el ser humano, por causas naturales unas veces o por conflictos armados en otras, ha estado comprometido.

Naturalmente, le corresponde a nuestro conferenciante de hoy exponer los aspectos de logística médico-sanitaria que permiten llevar a buen fin estas misiones, la gran mayoría de ellas en ambientes hostiles y en todo caso de precariedad y dificultades de todo género, y a nosotros, agradecer su presencia hoy en esta Real Academia de Medicina, dándole por anticipado las gracias por lo que con toda seguridad será una muy interesante conferencia, y supongo que para la mayoría de nosotros, desconocida faceta de nuestro Ejército, en su vertiente Médico-Sanitaria.

A mí, y para concluir, me resta dar las gracias a la Junta Directiva de la Real Academia de Medicina, por la confianza depositada, al permitirme presentar a este Ilustre Conferenciante asiduo asistente a nuestras sesiones, que desde hoy es un miembro más de esta casa, en la que siempre es bien recibido.

Muchas gracias!

**Ilmo. Sr. D. Francisco José Carapeto y Márquez de Prado**

SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 7 DE MAYO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

DESAFÍOS EN LA ENSEÑANZA  
DE LA MEDICINA

POR EL  
PROF. DR. D. FERNANDO CIVEIRA MURILLO  
ACADÉMICO CORRESPONDIENTE.  
CATEDRÁTICO DE LA FACULTAD DE MEDICINA  
DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA.

\*No facilitado.



I JORNADA TEMÁTICA:  
EMBARAZO, PARTO Y LACTANCIA  
DEL DIA 14 DE MAYO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

EMBRIOLOGÍA DE LA EMBRIOLOGÍA

POR EL  
ILMO. SR. D. HERACLIO MARTÍNEZ HERNÁNDEZ  
ACADÉMICO DE NÚMERO  
CATEDRÁTICO DE GINECOLOGÍA Y OBSTETRICIA  
DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

ANTROPOLOGÍA DEL PARTO

POR EL  
DR. D. SERGIO CASTÁN MATEO  
JEFE DE SERVICIO DE OBSTETRICIA DEL  
HOSPITAL UNIVERSITARIO MIGUEL SERVET DE ZARAGOZA

LA LACTANCIA MATERNA EN EL ARTE

POR EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ  
PRESIDENTE Y ACADÉMICO DE NÚMERO  
CATEDRÁTICO DE PEDIATRÍA DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

\*Publicado en tomo aparte.





SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 21 DE MAYO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

EL LENGUAJE DE LOS MÉDICOS

POR EL  
PROF. DR. D. HUGO LIAÑO MARTÍNEZ  
PROFESOR DE NEUROLOGÍA

PRESENTADO POR EL  
ILMO. SR. D. EDUARDO COSCOLÍN FUERTES  
ACADÉMICO DE NÚMERO



Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina de Zaragoza.  
Excelentísimas e ilustrísimas Autoridades.  
Excelentísimos e Ilustrísimos Académicos de esta  
docta Institución, queridos compañeros.  
Respectable auditorio.

Cautivados por la responsabilidad de dirigir unas palabras de bienvenida a nuestro compañero y sin embargo amigo, el profesor Hugo Liaño, nos vemos en la necesidad de solicitar benevolencia por considerar que no somos la persona de mayor solvencia para estos menesteres.

En 50 años no nos hemos visto.

Sí que sabemos de su trayectoria en forma de relámpagos o fogonazos, No sabemos de la vida del amigo más que lo que convivimos. Yo he podido saber de la vida de Hugo sin saber a qué colegio fue, donde aprendió sus primeras letras, y sin embargo, ¡casi es poeta!

¡Qué digo! ES un poeta. Y también un literato. Y también médico. Y también neurólogo. Y también profesor. Ahora se cumplen 50 años que comenzó una trayectoria brillante, polifacética, exuberante a veces. Aquel delegado de curso nuestro, prometía. Sí, que prometía...

Prometía y cumplió.

Hablar de Hugo Liaño lleva sin querer al neurólogo, Profesor de Neurología de la Autónoma de Madrid durante 41 años, Jefe de Neurología de Puerta de Hierro 32 años, Presidente de las Sociedades Neurológicas de España y de Europa, Vicepresidente de la Mundial, Presidente de la Asociación Hispano-Árabe de Medicina, fundador de la Asociación Madrileña de Neurología, Presidente de la Comisión Nacional de su especialidad, y un largo etcétera. Su prestigio internacional arrancó muy pronto en su biografía, cuando en 1969 publicó por vez primera hallazgos trascendentales en las proteínas del líquido cefalorraquídeo y su aplicación al conocimiento de enfermedades, tales como la esclerosis múltiple entre otras; por estas investigaciones fue conocido en todo el mundo neurológico y fué el primer español que publicó en diversas revistas científicas de habla inglesa en los principios de los 70.

Ha sido Profesor Visitante de las Universidades de Oxford, Londres y Los Ángeles, y Profesor Invitado en varias de Europa, América, Oriente Medio y África del Norte. Tiene en su haber el Premio Nacional de Investigación en Neurología (1969), la Medalla de Honor del Ministerio español de AAEE (1986), es especial Miembro de Honor de la Federación Mundial de Neurología (2000) y Gran Cruz de Honor de Oro de la Comunidad de Madrid (2011).

Pero el otro “yo” de Hugo Liaño, el escritor, me consta que protesta siempre que no se le tiene en cuenta. Y es que, aunque no ha tenido tiempo de hacer de la literatura una profesión, ha andado cerca. Ha publicado ensayos, como “El lenguaje de los médicos”, “Cerebro de hombre, cerebro de mujer” y el reciente “El conflicto de los sexos”. Ha escrito una novela histórica, calificada por Miguel Delibes como la mejor del género en lengua española, pero cuyo rigor “científico” en el tratamiento del lenguaje y la historia de un tema acaecido entre los siglos XVI y XVII la hicieron inasequible a muchos lectores de hoy. Su mayor éxito ha sido en el relato, cuento largo de unas 15 páginas impresas; su estilo trepidante, a modo de *thriller*, le valió en dos ocasiones el primer premio de certámenes nacionales. De la poesía, publicó en revistas de la época, en diarios y semanarios; a la petición de alguna editorial de todo su poemario, responde siempre que está en ello, pero no es capaz y se angustia al rescatar y releer sus versos.

Nacido en Zaragoza en 1941. Se licencia en Medicina y Cirugía por la Universidad de su ciudad natal en 1965 recibiendo el grado de Doctor por la Universidad Complutense de Madrid en 1969.

### **Actividades asistenciales**

- Asistente Extranjero, Hospital de Saint Joseph (Paris), Service de Neurologie (1965).
- Ingreso por Concurso Nacional en la Clínica Puerta de Hierro, Madrid (1966).
- Jefe Adjunto de la Sección de Neurología, Clínica Puerta de Hierro (1969-1970).
- Jefe de Sección del Servicio de Neurología, Clínica Puerta de Hierro (1970-1979).
- Jefe del Servicio de Neurología, H.U. Puerta de Hierro, por concurso oposición nacional desde 1979 hasta 2010.
- Director-Asesor de la Unidad de Neurorrehabilitación del Instituto de Neurociencia y Cátedra de la FUAM, Hospital Los Madroños, Madrid (Brunete), desde 2010.

### **Actividades docentes**

- Profesor Honorario de Fisiología de la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) (1969-1970).
- Profesor Adjunto de Medicina UAM (1971-1983).
- Catedrático de Medicina UAM (excedencia en 1984).
- Profesor Titular de la Cátedra de Neurología Médica (1984-2010).
- Coordinador de la docencia de pregrado en Neurología y Neurocirugía de los 4 hospitales clínicos de la UAM (2004-2010).
- Profesor Visitante de la Universidad de Oxford (R.U) 1982.
- Profesor Visitante de la Universidad de Londres (R.U) 1983, 1984.
- Profesor Invitado de las Universidades de Córdoba (Argentina), La Sapienza de Roma, Rabat (Marruecos), Autónoma de San José de Costa Rica. La Habana y Burdeos.
- Profesor del Máster en Neurorrehabilitación, U. Rey Juan Carlos, de Madrid (2011 y 2012).
- Profesor del Máster en Neurorrehabilitación, Universidad Europea de Madrid (2010-2015).
- Director de Tesis doctorales: 17 en España y 1 en Austria.

### **Actividades en Sociedades Científicas**

- Presidente de la Sociedad Española de Neurología.
- Co-Presidente de la EFNS (European Federation of Neurological Societies).
- Vicepresidente Electo de la WFN (World Federation of Neurology).
- Presidente de la Asociación Hispano-Marroquí de Ciencias Médicas.
- Fundador de la Sociedad Madrileña de Neurología.
- De la Junta Directiva de la extinguida Asociación Española de Neuropsiquiatría.
- Presidente de la Comisión Nacional de la Especialidad de Neurología, del Consejo Nacional de Especialidades Médicas.
- Delegado por España de la UEMS (Unión Europea de Médicos Especialistas).
- Delegado español de Medicina en UNESCO.

- Experto en los paneles de Cefalea y Epilepsia por la EFNS.
- Experto en Cefalea por MEDED (Medical Education) USA.

### **Investigación**

- Investigador que confirmó por vez primera, por un nuevo método, la existencia de inmunoglobulinas en líquido cefalorraquídeo no provenientes del plasma (primera publicación en 1969).
- Estudios de las inmunoglobulinas en ciertas enfermedades, en especial en la esclerosis múltiple (principales publicaciones entre 1969 y 1974).
- Director de 28 proyectos de investigación subvencionados.
- Colaborador en otros 16 proyectos.

Este es nuestro conferenciante, delegado de curso hace 50 años que estudió en los Escolapios de General Franco.

**Eduardo Coscolín Fuertes**

## **EL LENGUAJE DE LOS MÉDICOS**

### **PROF. HUGO LIAÑO**

El lenguaje constituye el retrato más preciso del ser humano, de su personalidad y cultura. Dice un antiquísimo proverbio persa: *“El hombre está oculto bajo su palabra”*. De sus diversas modalidades, la científica es la que se emplea en los escritos médicos. Y de este asunto, del lenguaje médico, he tratado en numerosas ocasiones, de viva palabra o por escrito, y siempre insisto en que no pretendo “leer la cartilla” a nadie, que no soy proclive al apostolado, y que simplemente me divierto y deseo entretener a la concurrencia, analizando nuestros vicios idiomáticos.

Por otra parte, los médicos somos un extracto de la sociedad a la que pertenecemos y por ende de los tiempos en que nos encontramos. No debemos olvidar que ciertos sistemas e instrumentos de comunicación se han instalado en nuestras vidas y que han modificado de forma importante el lenguaje, no ya médico, sino general. ¿Quién puede negar que nuestra escritura a mano se ha deformado y es cansina para quien la pone en juego en contadas ocasiones, desde que hay teclados de todo tipo? Además, internet cambia el proceso cerebral del lenguaje e incluso la elaboración del pensamiento, y otro tanto podemos decir de los “smartphones”, las “tablets” y la mensajería por “WhatsApp”; Nicholas Carr escribía en 2011 un jugoso ensayo titulado *“¿Qué está haciendo Internet con nuestras mentes?”* y yo mismo dedicaba un capítulo del ensayo *“El conflicto de los sexos”* (Ed. B. 2014) a lo que denominaba “La comunicación de los pulgares ágiles”.

No carece de interés, en lo que a influir en el lenguaje actual se refiere, el efecto de lo que yo denomino “buenismo socio-político” o lo que hace años se tildó de “lenguaje politiqués”; es la consabida introducción en “os-as”, “ciudadanos y ciudadanas”, “compañeros y compañeras”...y hasta el famoso tándem “miembros y miembras”; es aquello de que no haya personas negras, ni siquiera “de color” –como si los caucasianos fuésemos incoloros como el agua- sino “afroamericanos” o “subsaharianos”; es que hayan desaparecido los “sexos”, sustituidos por los “géneros”, que da pie a recordar el “género” que aportaban los representantes, hoy comerciales, a las tiendas; es el que no haya hombres homosexuales, sino “gays”, o sea etimológicamente “alegres”. Y tantos y tantos

ejemplos que podrían ponerse sobre lo que recae en el lenguaje de lo que ha venido en llamarse lo “políticamente correcto”.

Hechas estas puntualizaciones, hay que reconocer que a menudo los médicos hablamos y escribimos con malas maneras. Pero no lo hacen mejor los políticos, los economistas, los abogados, y lo que es más grave, por su difusión, quienes hablan por radio o televisión, diciendo que “*nos mandan tal cosa en Europa*”, a nosotros los “asiáticos”, los que “*preveen*”, y quienes nos atienden en “*breves minutos...o instantes*”.

Sobre la base de lo antedicho hay motivos añadidos del mal empleo del lenguaje. En primer lugar, la falta de beneficio inmediato por escribir o hablar bien. La segunda razón es nuestra cada vez más exigua preparación humanística; mientras el 73% de los vocablos proceden del latín, éste ha quedado prácticamente eliminado de la enseñanza; a los estudiantes de Letras se los toma casi por disminuidos intelectuales, y no hace muchos años un Ministro de ¡Cultura! Dijo “*catorceavo*” por “*decimocuarto*”.

“*Dicho lo cual*” y “*en base a..*”, al decir de los tertulianos “intelectuales”, no dejemos atrás a algunos de nuestros académicos de la Lengua, que ora por desconocimiento, ora por pretender un maquillaje juvenil, incurren en paradojas tales como calificar un día, justamente, de dislate al término “analítica” del lenguaje vulgar médico, y pocos años después incluirlo en su diccionario como tercera acepción; y la turba de extranjerismos que se admiten, aunque tengan una muy sencilla traducción.

También se nos ha acusado de que abusamos de términos técnicos para hacer incomprensible nuestro lenguaje a los profanos. Así, Amando de Miguel en “*La perversión del lenguaje*” escribió acerca de la oscuridad en la terminología médica y la atribuyó a la vanidad de los médicos. García y Gracia decían en “*Antropología de la Medicina*” que “*el médico se ha caracterizado siempre por un lenguaje artificial y hermético*”, debido, según ellos, a un oscurantismo deliberado. Yo creo que estas opiniones no son justas ni selectivas de la Medicina. Cuando se escuchan las informaciones por televisión, los coches no chocan sino que son “vehículos que colisionan por alcance”; todos los gremios ponen en marcha “el protocolo”; y por más que se apliquen con interés los sanitarios que atienden a un accidentado, a menudo no pueden salvarlo e “ingresa cadáver”; nunca muere nadie, sino que “fallece” o es “*éxitus*”, y no se caen desde una ventana sino que “se precipitan”; y de esta guisa podríamos citar numerosas expresiones reviradas y pomposas. Yo pienso sinceramente que el lenguaje médico es menos hermético y engolado que el de juristas y economistas, por ejemplo; y mucho menos acompañado de aspavientos que el de quienes nos informan de la previsión meteorológica tras los telediarios.



Finalmente, este tipo de autocrítica que estoy haciendo no es excepcional en Medicina; no conozco que se haga en otras profesiones técnicas o científicas.

La clasificación de los defectos lingüísticos médicos puede hacerse siguiendo su “etiopatogenia” o mediante su “semiología”. Laín Entralgo empleó la modalidad primera, y lo hizo en 1958; o sea que somos bien veteranos los médicos en esta modalidad de purga interna.

A mí me resulta más práctica la segunda forma, la semiológica, y los ordeno porque se usen más en el lenguaje hablado o en el escrito, y éste – a su vez – en historias clínicas, informes o publicaciones.

En el **lenguaje hablado** cotidiano, los defectos más corrientes son: extranjerismos, cambios de género, perífrasis y eufemismos, pleonasmos, modismos y barbarismos.

La mayoría de los **extranjerismos** no sólo no desaparecen, sino que muchos adquieren “nacionalidad española”, a pesar de que tengan fácil traducción; ejemplos de ello son: “*shock*”, “*by-pass*”, “*kit*”, “*pool*”, “*shunt*”, “*borderline*”, “*look*”, “*test*”, “*toilette*”, “*plateau*”, etc. Y de la adopción de algunos se ha arrepentido la RAE en su 23ª edición..

Los **cambios de género** son frecuentes en el lenguaje médico. Algunos se han formado por la cacofonía del artículo cuando la palabra comienza por “a” y después se han olvidado de respetar el género del adyacente. Ha pasado de ambigua a masculina la palabra “acné”, sigue ambigua “acmé” pero con claro predominio masculino; han sido y son femeninas “anasarca”, y “asma”; el error aparece cuando se las adjetiva en masculino, pues el asma tiene que ser cardíaca, crónica, atópica o extrínseca; o la anasarca debe ser intensa. En otros casos, no está claro el porqué de la mutación hacia el masculino al usar algunos médicos de términos femeninos como “las extrasístoles” o “la psoriasis”. Como puede verse, en la tendencia transexual predomina la masculinización, lo cual puede interpretarse como un signo más del secular machismo.

Los **eufemismos, perífrasis y circunloquios** se suelen escuchar cuando los médicos se dirigen a los familiares de los enfermos, con expresiones como “*nos tememos lo peor*” o “*puede pasar cualquier cosa*”, por no decir abiertamente que lo más probable es que se muera. Pero, tras eufemismos de este corte, un médico le puede hablar a otro de que al paciente equis con fiebre y confusión, va a “*pincharle la raspa, no vaya a ser que haya cogido una meningitis*” y suelen pedir “*analítica completa con coagula*”.

Los **pleonasmos** son especialmente frecuentes en el lenguaje hablado de sesiones y reuniones científicas. Se dice que “*parece verosímil*”, se pretende la “*erradicación total*”, se llega a unas “*conclusiones finales*”, se busca la “*causa etiológica*”, se emplea un “*tratamiento quimioterápico*”, se exponen

“*prerrequisitos*” para un ensayo clínico, o se pretende conocer el “*porvenir ulterior*” para lograr un “*buen éxito*”, ya que el tema objeto de estudio está en “*auge ascendente*”, si bien algo permanezca “*como un enigma no resuelto*”. “*Prerrequisito*” está aceptada por la REA con la acepción de “requisito previo”; cuando no hay duda de que un requisito es una condición *per se* previa o necesaria para alcanzar algo.

A veces se escucha de entre las conclusiones de unos comisionados que “*todos concordamos en estar de acuerdo*” y que hemos elaborado un “*proyecto de futuro*”; menos mal que el comité lo forman personas vivas y cultas, pues ¿qué podría haberse esperado si se hubieran reunido “*mueertos*” o “*tumores*”, que son los que supongo que se sientan en torno a una mesa en los llamados “*Comité de fallecidos*” y “*Comité de tumores*”?

De cuantos **modismos** invaden nuestro lenguaje, el más monótono es el que “se hace con el verbo hacer”. Nuestros enfermos, además de estar sufriendo, deben tener la culpa de lo que les pasa, porque todo lo “*hacen*” ellos. A saber, “*hacen una hemiparesia, hacen un cuadro de tal o cual tipo, hacen una recaída, hacen metástasis...*”; cuando la verdad es que estos sucesos les sobrevienen, les aparecen, los sufren o se desarrollan en ellos, muy a su pesar.

Una palabra comodín en la Medicina es “*control*”, término de origen francés en el que confluyen “*contre*” y “*role*”, y que, traspasada al inglés, la hemos recogido. Desde hace menos años, supera al comodín anterior la palabra “*protocolo*”; hoy existe un “protocolo” para todo, y me gustaría saber cómo ha llegado al día de hoy el uso del término “protocolo”, que nació de ser la primera hoja pegada “*proto collo*” en un libro, para que un notario autentificase la autoría del mismo.

**Barbarismos** hablados son los que mezclan el instrumento o método técnico con el resultado del estudio que con ellos se hace. Se “*hace un doppler o un escáner*” en vez de hacer una exploración circulatoria o craneal, respectivamente, con el método doppler o con un “escáner”.

Otro muy frecuente es el uso de “*a nivel*”, que es un concepto de altura u horizontalidad o de situación social, para indicar la naturaleza del tema del que se habla. Por ejemplo “*a nivel neurológico, diríamos que este enfermo...*”

Hay algunos términos que son mal empleados o tópicos, como “*asumir*”, “*puntual*”, “*flecos*”, “*retomar*”, etc. De nuevo, dos de ellos, “*puntual*” y “*flecos*” están oficializados en el sentido espurio al que nos referimos. Otros, como el ya citado “*preveer*” por “*prever*”, viene a dar en el ridículo gerundio “*preveyendo*”. Finalmente, uno que decimos con frecuencia sin analizar los componentes de la palabra, es “*antibioterapia*”, o sea un tratamiento con sustancias antibiológicas, cuando debíamos emplear “*antibioticoterapia*”, pues nos referimos a un tratamiento con antibióticos.

## LENGUAJE DE HISTORIAS E INFORMES MÉDICOS

Comienzan con tópicos como “*encontrándose previamente bien*”, hoy incluso puede ser “*paciente con BEG*” (¡Buen Estado General!), sigue con “*buena coloración de piel y mucosas*”, “*abdomen blando y depresible*”, “*cuadro de...*”, “*evolución lentamente progresiva*”. Se confunde “*grave*” con “*severo*”, “*leve*” con “*ligero*”, y peor aún con otras cualidades como “*discreto*” o “*moderado*”. Los gerundios incorrectos abundan, empleados en tiempo posterior al de la acción principal o con significado de acción permanente, tales como los que vamos a imitar: “*tuvo una reacción, suspendiendo dicha medicación*” o “*les vive un hijo, siendo epiléptico*”.

El uso de siglas llega al extremo de hacer incomprensible el texto, si no se hace uno experto en esta jerga. También se olvidan de que las siglas tienen género y todo el mundo habla o escribe de “*un TAC*” en vez de “*una TAC*”, de “*un PET*” y no de “*una PET*”; olvidamos que hablamos de unas tomografías, no de “unos” tomografías. Sorprendentemente, TAC y PET están señaladas con género masculino en la XXIII edición del DILE. Otro error es poner las siglas en plural y escribir que a un paciente se le han hecho “*3 EEGs*”.

Un barbarismo “clásico” de los informes es el uso impropio del verbo “*objetivar*” y con él se escribe a menudo la siguiente retahíla de inconveniencias: “*no se objetiva patología neurológica* (o de lo que sea) *orgánica*”. Es decir, se ofrece como diagnóstico una negación, lo que no se encuentra. Se hace uso de un verbo, “*objetivar*”, con el significado de “hallar, encontrar, ver” que son expresiones bastante más sencillas y adecuadas, y no la de “*objetivar*”, que querría decir “dar carácter objetivo a una idea o sentimiento”. El engendro continua empleando el binomio “*patología orgánica*”, queriendo decir “*enfermedad encontrada con criterio organicista*”. Siembra la duda de si en Neurología, que es el ejemplo puesto, habrá enfermedades que no sean patológicas o que no sean orgánicas, es decir que no afecten a algún órgano.

Lleva ya años instalada otra petulancia: “*visualizar*”. En los informes de los eufemísticamente denominados “estudios por imagen”, los médicos no “ven” las imágenes obtenidas, sino que las “visualizan”; o sea que los médicos informantes cierran los ojos y se las representan de modo virtual para analizarlas. Tampoco los profesionales del cine o de la televisión “ven”, sino que “*visionan*” las películas e imágenes. En la línea de poner “*izar*” como desinencia a las palabras, también se “*optimizan*” métodos de tratamiento, procedimientos diagnósticos, etc, cerrando el paso a más mejoras, pues lo óptimo es inmejorable. No se “señala”, sino que se “*señaliza*”. Me recuerda aquel libro de Cela, titulado “*Izas, rabizas y colipoterras*” ¿estaremos empeñados en “*izar*” o “*rabizar*” la lengua española? Y ya saben a qué gremio aludía don Camilo con estos términos. Eso sí, con la aquiescencia de quienes tienen que “limpiar, dar

brillo y esplendor”; ¿no es el inglés la lengua más hablada en el mundo? Creo que no hay ninguna Real Academia de la lengua inglesa.

En las historias y exploraciones se repiten pleonasmos del tipo de los “dolores neurálgicos” o de las “pupilas isocóricas”, éste formado por el griego “kore” (pupila o niña), “iso” (igual), y de nuevo “kórico”, que conforman algo así como “pupilas de iguales pupilas”. Sería suficiente hablar de “isocoria” o de “pupilas iguales”.

## LENGUAJE DE PUBLICACIONES

En esta modalidad de lenguaje médico, el vicio más arraigado es el extranjerismo y los principales defectos el agramatismo y la mala sintaxis.

Toda exploración comienza por “el paciente mostró”, o sea “*the patient showed*”, en pretérito indefinido narrativo o pasado simple inglés. En mis primeros tiempos, “*el paciente presentaba...*”, es decir “*le malade présentait...*”, en pretérito imperfecto como en francés. Con esto de que “el paciente mostró”, he llegado a leer que “*mostró leucopenia*”, lo que me hace pensar que, al ser explorado, el enfermo exhibió un papel con un análisis de sangre en el que las cifras de leucocitos estaban bajas. Además, en español, eso de “mostrar” da idea de poner algo a la vista, como un escaparate, un mostrador, o de enseñar algo de forma práctica, de la manera que un técnico nos “muestra” el funcionamiento de una máquina. La exhibición continúa por la exploración y el paciente “*mostraba hemiparesia, hepatomegalia...*” o lo que sea. Con lo sencillo que es decir “el paciente tenía tal o cual anomalía” o “en la exploración encontramos hipoestesia en el lado izquierdo del cuerpo...”

En la introducción o en el “*abstract*”, antes “*resumé*”, hoy se construye así, al británico modo: “*Veinte casos de síndrome de Behcet han sido estudiados*”, como aquello de que los pasajeros permanezcan sentados “*hasta que las puertas hayan sido abiertas*”.

Hace años hubiera sido así: “*Se estudian 20 casos de síndrome de...*”, porque los franceses dirían “*On étudient...*”.

Lo español sería decir que “los autores han estudiado 20 enfermos con...” O que “en 20 casos de síndrome de ...los autores han estudiado los siguientes aspectos”

Un analista de un trabajo publicado escribe a veces que el autor referido “*ha realizado un elegante estudio*”, cuando el término sacado de forma esnobista del inglés nada tiene que ver con la elegancia española.

Otra confusión es la de los “potenciales **evocados**”. O sea que “sirven para recordar hechos pasados” o incluso para “invocar las almas de los muertos”.

Lo cierto es que son potenciales **provocados** o **desencadenados** por un estímulo.

También “*se **invoca** una patogenia **autoinmune**...*” Se puede “invocar” para llamar o pedir auxilio a Dios, a los santos, etc, o también para recurrir o apelar a una entidad o una cualidad de ella. Es de sentido común que quienes “invocan” lo que hacen es “atribuir” a una cierta patogenia lo que sea. Otro tanto se puede decir de cuando a menudo “*se **asume**”* que un mecanismo produce algo, ya que el contexto indica que lo dicen en vez del correcto “*se **supone**”*.”

Por cierto que el término “patogenia **autoinmune**”, literalmente quiere decir que es “invulnerable para uno mismo”. O sea justamente el significado contrario al que se pretende.

Tanto en uno como en otro modo de lenguaje médico hay muchos **errores desinenciales**: “*metastásico*” o “*nefrósico*”, en vez de los más correctos “*metastáticos*” o “*nefróticos*”.

Una frecuente incorrección es hacer **sinónimos** una cualidad del sujeto del método de estudio determinante del mismo; una alteración psíquica no tiene que ser psicológica. O la identificación del término activo con el pasivo; “carcinógeno” es lo que genera cáncer, o “neurogénico” está producido por el sistema nervioso.

Se atribuye el nombre de una gestión o acción, al producto de la misma. De modo que hoy día a nadie le dan una “cita” mediante la “citación” que elabora una persona de la secretaría, sino que directamente reciben una “*citación*”. Y esto vuelve a ser, como la “*señalización*” en vez de las “*señales*”, con el visto bueno de la RAE.

Hay muchos **defectos fonéticos**. Entre los más frecuentes es emplear el término “*estadio*” (con tilde) en vez del correcto “*estadio*” (sin tilde, como los de fútbol). Hasta muchos especialistas en Oftalmología llaman erróneamente “*diplopia*” (sin tilde) a la visión doble, en vez de “*diplopía*” (con tilde). O ¿es que hay “miopia” o hipermetropía sin tildes? También se confunde lo “*salival*” o propio de la saliva y que es la dicción correcta, con “*salivar*” que es la acción de arrojar saliva.

Es habitual utilizar el latinismo “*versus*”, es decir “contra”, como disyuntiva.

Otro tanto pasa con las expresiones incorrectas por pronunciar con “equis” lo que es con “ese”; los hay que pronuncian “*expontáneo*”, como dirían “*expectador*”, y que dicen “*exotérico*” cuando lo que quieren decir es lo contrario, lo que sólo conocen los iniciados, lo “esotérico”, con “ese”.

Me permito, para terminar, aconsejar, por una parte, más personalidad al hablar y escribir de Medicina y menos gregarismo, imitación y empleo de frases

hechas; y por otra hacer gala de sencillez, hablar de forma natural, sin pretensiones retóricas, y escribir en español normal, ya que no se trata de utilizar un lenguaje literario o esotérico; en ese español cuyas oraciones suelen comenzar con un sujeto y seguir con un predicado, y en cuyo interior no debe faltar el verbo apropiado a la acción.

SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 4 DE JUNIO DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

EL ERROR DE LA MEDIDA  
EN LA INVESTIGACIÓN MÉDICA

POR EL  
ILMO. SR. D. MIGUEL ANDERIZ LÓPEZ  
TESORERO Y ACADÉMICO DE NÚMERO





## EL ERROR DE LA MEDIDA EN LA INVESTIGACION MÉDICA

Sres Miembros de la Academia y distinguidos asistentes:

Además de constituir este acto un honor para mí, supone también un privilegio, ya que hace más de cincuenta años que, con motivo de haber obtenido el premio Gari de esta Institución, pronuncié mi primera conferencia en este mismo local.

Entrando en materia, conviene ante todo que recordemos los tipos de mediciones con los que vamos a tratar y que aparecen detallados en la figura 2/28.<sup>1</sup> En ella vemos que la talla por ejemplo se mide directamente aplicando

**2/28**

**TIPOS DE MEDICIONES**

**1) M. DIRECTAS** (No requieren cálculos ni fórmulas)

- 1.1.- Primarias** (Ejs. Talla, Espesor de una lámina)
- 1.2.- Secundarias** (Ejs. Peso, Temperatura)

**2) M. INDIRECTAS** (Requieren fórmulas de cálculo)

- 2.1.- De una variable** (Ej. Glucemia)
- 2.2.- De varias variables** (Ej. Superficie corporal)

**EVALUACIÓN DE ERRORES (Valores absolutos)**

- M. DIRECTAS.-** Procedimientos estadísticos: Media, Desviación típica, Error estandar de la media, etc.
- M. INDIRECTAS.-** Evaluación de derivadas, Cálculo diferencial, Derivadas parciales, etc.

1. Las Figuras forman parte del texto por lo que hay que examinarlas detenidamente y en su orden.

una escala de longitudes, mientras que para medir el peso suele utilizarse el grado de distensión de un resorte. De la glucemia y de la superficie corporal trataremos en sendos ejemplos.




En esta exposición tan solo nos vamos a referir a medidas cuantitativas, enfoque bastante diferente del que se hace cuando se habla de la lectura crítica de un trabajo. En la figura 3/28 podemos apreciar gráficamente las características principales de las medidas así como de los aparatos de medición.

3/28

## EL ERROR EN LA INVESTIGACIÓN

**Sesgo y error.** Tratamos aquí de la medición, no de la Lectura Crítica.

**LAS MEDIDAS (Cuanti)**

Exactitud,	Fiabilidad,	Precisión o Validez.
		

¡ Repetición de mediciones !

**Blancos, Patrones, Testigos.**

**CLASES DE ERROR:**

**Absoluto y Relativo.** (Ejemplos)

**Errores sistemáticos.** (Error de cero, de escala, etc.)

**Errores groseros.** (Cansancio, paralaje, etc.)

**Errores aleatorios:** Media = 0; Desv. típica =  $\sigma$

Indice de precisión =  $1/\sigma\sqrt{2}$

**LOS APARATOS DE MEDIDA**

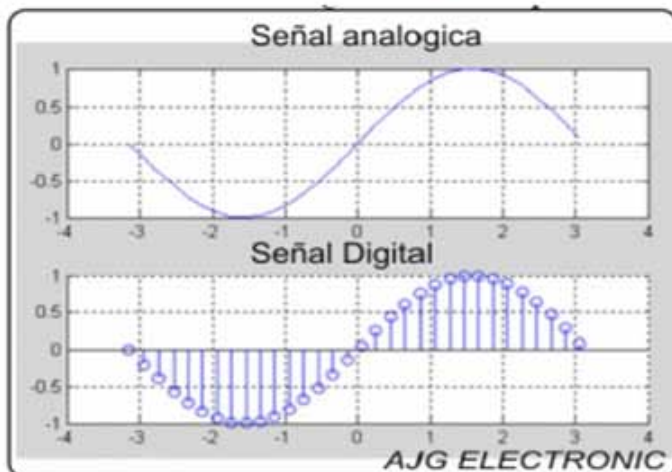
**Sensibilidad** (Variación cuando  $\Delta x = \text{Una unidad}$ )

**Resolución** (Mín. división de escala) (Análogos y Digitales)

De las clases de error que aparecen reseñadas, tan solo ilustraremos con un ejemplo la primera de ellas. Así, medir la distancia de la tierra a la luna con un error absoluto de un metro es una maravilla de precisión, mientras que este mismo valor de error de un metro, aplicado a la medida de la talla de una persona es sencillamente inadmisibile. El llamado **error relativo**, que es el cociente del error absoluto y la verdadera magnitud de la medida tomada, es en la mayoría de las ocasiones más útil a todos los efectos.

La diferencia entre las escalas de medida analógicas y las digitales la vemos en la figura 4/28. En las presentaciones digitales aparecen tres conceptos: su

## ANALÓGICO v. DIGITAL y VICEVERSA

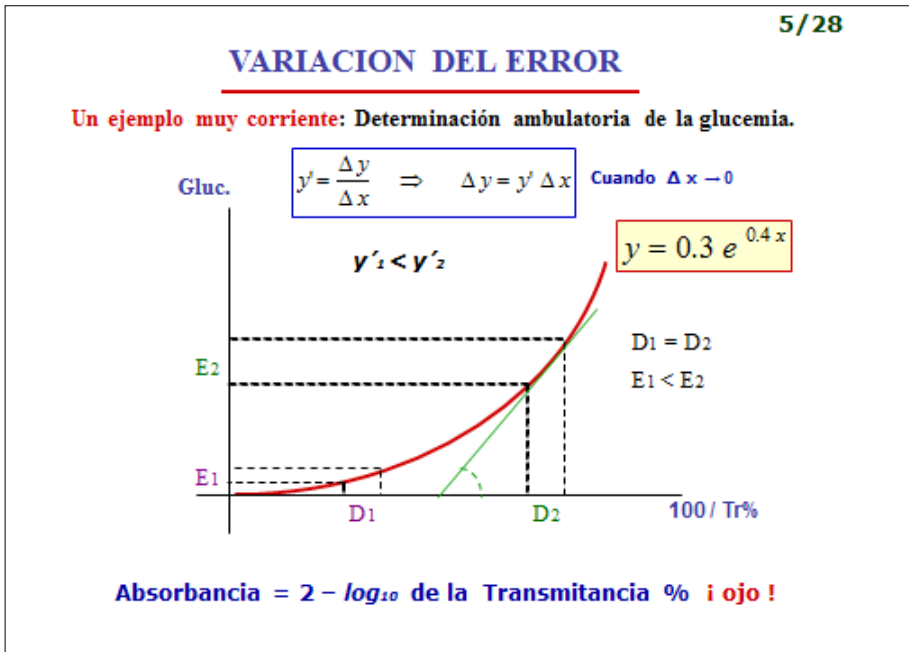


presencia o ausencia, su signo y su intensidad cuando procede. Las mediciones analógicas se equiparan a las magnitudes continuas, aunque de hecho no lo sean, mientras que las digitales se equiparan a las discretas.

Merece la pena insistir en el efecto beneficioso que tiene la repetición de mediciones en cada caso, siempre que sea posible. En efecto, de esta manera se pueden corregir en gran parte los inevitables errores aleatorios que se producen en las medidas, ya que el valor de la media (o de la mediana) por lo general está más próximo a la realidad que el de medidas aisladas.

Comentamos a continuación, casi por vía introductoria, un ejemplo que es muy corriente en las mediciones ambulatorias de la glucemia para el control de la diabetes: la fiabilidad de las repeticiones disminuye al elevarse las cifras de glucemia.

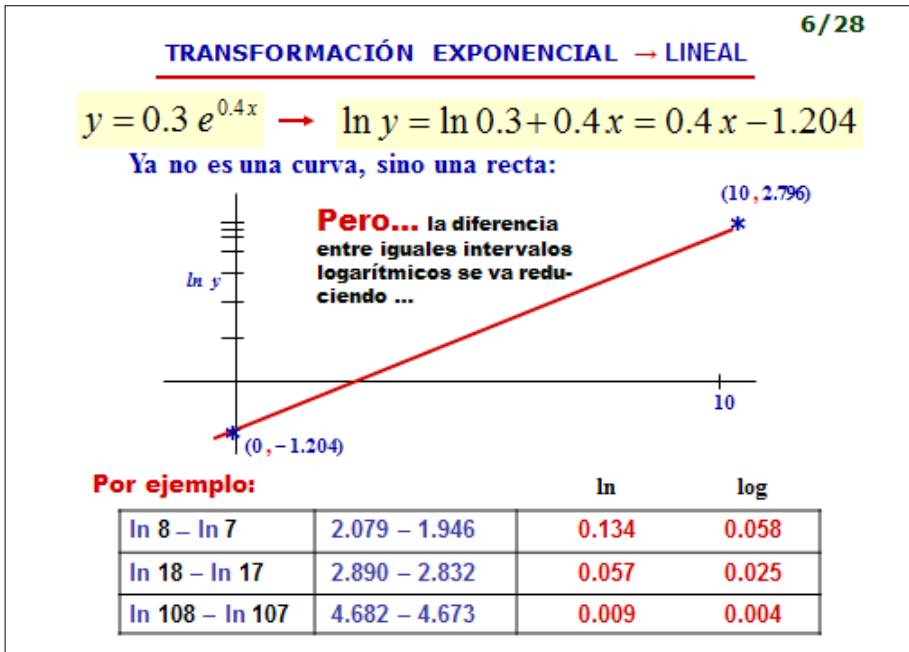
¿Cuál es la explicación de este fenómeno? En la figura 5/28 podemos atisbar una respuesta. En ella vemos que un mismo incremento en la absorbancia,  $D_1$  y  $D_2$ , con  $D_1 = D_2$ , tiene mucha mayor repercusión sobre el valor de la glucemia en  $D_2$ . Es decir,  $E_2 > E_1$ . La curva roja es una modelización de los valores de la glucemia en función de la absorbancia (medición indirecta, con una sola variable en este caso). La ecuación exponencial de la curva de absorbancia,



en el caso hipotético del ejemplo, es la que aparece sobre fondo amarillo en el recuadro rojo de la derecha de la imagen. El incremento del valor de  $y$ ,  $\Delta_y$  (glucemia), es el producto de dos factores (recuadro azul): el valor de la derivada de la función,  $y'$ , en el intervalo de que se trate, y el del error (incremento de  $x$ ,  $\Delta_x$ ) en el mismo intervalo.

Ahora bien, el valor de la derivada a una función, en un punto dado, es el valor de la tangente trigonométrica del ángulo que forma la tangente a la curva de la función en ese punto con la dirección positiva del eje de abscisas (aquí marcados en verde). Es evidente que este ángulo, así como la tangente trigonométrica, son mayores en  $D_2$  que en  $D_1$ , quedando por lo tanto explicada la razón de nuestra desigualdad:  $E_2 > E_1$ .

Habrà quien pueda pensar que empleando en el eje de ordenadas, en lugar de los valores de glucemia, sus logaritmos (naturales o decimales), la función exponencial se convierte en una recta, como así es y así lo muestra la figura 6/28. Esto es cierto pero tiene el inconveniente de que las diferencias de los valores de los logaritmos de cantidades equidistantes (con la misma diferencia) se van reduciendo a medida que aumentan tales valores. Basta ver la parte inferior de la figura 6/28 para comprobarlo, tanto en el caso de logaritmos naturales como en de logaritmos decimales.



La confirmación de lo que estamos diciendo se puede apreciar en la figura 7/28, en la que vemos que un valor de  $x$  correspondiente a 14.52 se traduce en una glucemia de 100 mg/dl, mientras que un valor de  $x$  de 17.27 corresponde a una glucemia de 300 mg/dl. Si ahora consideramos un error positivo  $\Delta x = 0.5 \%$ , y sumamos su mitad (para situarnos en el centro del nuevo intervalo  $\Delta x$ ), se observa un error en la determinación de la glucemia que es el triple en el segundo caso que en el primero. El error también se ha multiplicado por 3. Esto nos confirma que el valor de la derivada varía según el lugar que consideremos en la función que estemos manejando en cada caso.

Esta última figura termina con una interrogación sumamente interesante: el cálculo de la precisión de un determinado aparato de medida. Para responder a dicha pregunta consideremos la figura 8/28.

Aquí hemos utilizado la técnica “Ji-Cuadrado” en su variedad de comparación de un resultado experimental con una teoría, ya que se trata de comparar los resultados de la medición de 5 patrones de glucemia con una teoría (la precisión del aparato). Aunque la prueba  $\chi^2$  está diseñada para frecuencias, es perfectamente utilizable aquí. No faltan quienes prefieren el llamado **test G**, de máxima verosimilitud, pero éste da el mismo “peso” a los patrones que a los resultado de las medidas en el aparato. Hay que aclarar que ambos procedi-

**MAGNITUD RELATIVA DEL ERROR**

Sea la ecuación  $y = ae^{bx}$  Con  $a = 0.3$  y  $b = 0.4$   
 Su derivada es  $y' = abe^{bx}$  La variación de  $y$  es  $Vy = y' \Delta x$

Consideremos un  $\Delta x = 0,5$  % para  $\begin{cases} y_1 = 100 \text{ mg/dl} \\ y_2 = 300 \text{ mg/dl} \end{cases}$   
 $y_1 \rightarrow x_1 = 14.52$  (+  $\Delta x/2 = 14.77$ )  
 $y_2 \rightarrow x_2 = 17.27$  (+  $\Delta x/2 = 17.52$ )

Aplicando la fórmula:  $\begin{cases} Vy_1 = 0.12 \times e^{0.4 \times 14.77} \times 0.5 = 22.078 \\ Vy_2 = 0.12 \times e^{0.4 \times 17.52} \times 0.5 = 66.326 \end{cases}$

$Error_1 = 22.1 \text{ mg/dl}$   
 $Error_2 = 66.3 \text{ mg/dl}$

Los valores de las derivadas pueden variar según las "partes" de la función sobre las que estemos trabajando. **ESTO ES IMPORTANTE EN INVESTIGACIÓN**

↓  
**¡ Diferencia notable !**

¿ Podemos evaluar de alguna manera la **precisión** de los aparatos de medida ?

**PRECISIÓN DE LOS APARATOS DE MEDIDA**

Se trata de determinar la glucemia en 5 patrones. He aquí los **RESULTADOS**:

Patrones	mg/dl	mg/l	mg/Dl
80 mg/dl	84	836	8357
90 mg/dl	88	882	8815
100 mg/dl	98	983	9826
110 mg/dl	112	1119	11190
120 mg/dl	118	1183	11833
g.l.	4	4	4
Valor ji-2	0.35	2.84	28.37
Valor p	0.986	0.585	0

**CONCLUSIÓN:** Con el aparato utilizado son aceptables los **mg/dl**, al menos los **mg/l**, e inaceptables los **mg/Dl**.

## MÉTODOS PARA EL ESTUDIO DE LOS ERRORES

### 1 - Conducta a seguir

- a) **Evaluarlos** (Estudios de sensibilidad)
- b) **Acotarlos** (Cálculos matemáticos)

Los Profesionales de Ciencias de la Salud están en general capacitados para evaluarlos, con un mínimo conocimiento de procedimientos informáticos y de programación sencilla

### 2 - ¿En qué medida podemos evitar los errores?

- a) Conocimiento de procedimientos y fundamentos
- b) Conocimiento y pericia en manejo de aparatos
- c) Huir de cálculos complicados y reiterados !

Veremos un ejemplo comentado de este último apartado

mientos coinciden sensiblemente. El valor  $p$ , que figura en la última fila puede interpretarse como *la probabilidad de que **no sean diferentes** los valores de los patrones y los resultados de las correspondientes medidas con el aparato en cuestión*. Queda claro que la precisión del aparato es **mg/dl**, siendo ya discutible la de mg/l.

La figura 9/28 establece una clara distinción entre lo que es **evaluar** los errores y **acotarlos**, es decir ponerles límites. A lo largo de esta exposición se muestran ejemplos de ambas formas de proceder.

**PASAMOS AHORA A COMENTAR CUATRO EJEMPLOS** que nos ayudarán a fijar ideas. En primer lugar abordamos, figura 10/28, una medición indirecta y que por lo tanto utiliza fórmulas, cual es la estimación de la superficie corporal de un sujeto adulto a partir de su estatura y de su peso, estimación con varias aplicaciones médicas.

El hecho de que en la primera fórmula figure un coeficiente multiplicador, 71.84, nos hace pensar que, al estar las derivadas afectadas por ese coeficiente, el posible error vendrá multiplicado por ese mismo valor, lo cual es cierto. En cambio, en la segunda fórmula aparece un divisor, 60, que no es una “división” del error, ya que el resultado se ofrece en el primer caso en centímetros

Veamos ahora algunos ejemplos**1) FÓRMULAS PARA EL CÁLCULO DE LA SUPERFICIE CORPORAL**

1.1) **DuBois y DuBois**  $SC(cm^2) = 71.84 \times P^{0.425} \times T^{0.725}$   
 Peso, en Kg; Talla en cm.

1.2) **Mosteller**  $SC(m^2) = \frac{1}{60} \sqrt{Peso(en\ kg) \times Talla(en\ cm)}$

**ANTES DE SEGUIR ...**

$$10000 / 60 = 167$$

- En la primera hay un coeficiente, en la otra un divisor ¿?
- ¡ Distintas unidades de medida !
- Las dos funciones han de estudiarse "a trozos"
- La derivada de una función potencial también lo es
- Una raíz cuadrada es potencial de exponente  $\frac{1}{2}$  ( $G_{exp} = 0.55$ )
- Puede emplearse el cálculo de la "sensibilidad"
- Está claro que interesa un estudio comparativo

**Consideremos ahora ambas fórmulas por separado ...**

**FÓRMULA DE DUBOIS Y DUBOIS**

Varón de 70 Kg y 170 cm  
 $\epsilon_p = 0.1$  Kg;  $\epsilon_t = 1$  cm

11/28

$SC(cm^2) = 71.84 \times P^{0.425} \times T^{0.725}$   
 1.8097 m.<sup>2</sup>

Derivadas parciales:

Variación:

$$V_y = \frac{\partial y}{\partial p} \epsilon_p + \frac{\partial y}{\partial t} \epsilon_t \quad V_y = (109.9 \times 0.1) + (77.18 \times 1) = 88.2 \text{ cm}^2$$

**FÓRMULA DE MOSTELLER**

$SC(m^2) = \frac{1}{60} \sqrt{Peso(en\ kg) \times Talla(en\ cm)}$   
 1.8181 m.<sup>2</sup>

Derivadas parciales:  $\left\{ \begin{array}{l} \frac{\partial SC}{\partial P} = \frac{1}{120} \sqrt{\frac{T}{P}} = 0.013 \quad ; \quad \frac{\partial SC}{\partial T} = \frac{1}{120} \sqrt{\frac{P}{T}} = 0.0053 \end{array} \right.$

Variación:

$$Var\ SC = \left( \frac{\partial SC}{\partial P} \times \epsilon_p \right) + \left( \frac{\partial SC}{\partial T} \times \epsilon_t \right) = (0.013 \times 0.1) + (0.0053 \times 1) = 0.0066 \text{ m}^2 = 66 \text{ cm}^2$$

**El % de variación en la primera es el 0.49 %; en la segunda el 0.36 %**



cuadrados, mientras que en el segundo se proporciona en metros cuadrados. Basta considerar que un m<sup>2</sup> tiene 10000 cm<sup>2</sup> para deshacer el equívoco: si el resultado de la fórmula de Mosteller lo diéramos en cm<sup>2</sup>, el coeficiente sería igual a 10000/60, o sea aproximadamente 167.

En la figura 11/28 se comparan ambos resultados tomando como referencia un varón de 70 kg de peso y de 170 cm de estatura, admitiéndose un error de 0.1 kg en el peso y de 1 cm en el tallaje. Los resultados, en metros cuadrados de superficie corporal, se presentan en rojo en cada apartado. De la misma manera se detallan las derivadas parciales. Para la acotación de errores se ha utilizado la fórmula de la figura 12/28, en la que los trazos verticales que aparecen denotan valores absolutos, es decir que si resultasen ser negativos habría que cambiarles el signo. Así, por ejemplo,  $|-7| = |7| = 7$ .

Puede comprobarse que el porcentaje de error relativo es muy aceptable en cualquiera de ambas fórmulas. Una advertencia interesante es hacer constar que, dada la variabilidad de las derivadas en distintos tramos de la función estudiada, es decir las fórmulas que aquí hemos empleado, estas mismas fórmulas no serán aplicables por lo general en niños, ancianos, desnutriciones extremas, grandes obesidades y muy diversos tipos de patologías que afecten al estado nutricional. En la figura 12/28 se precisan otros aspectos del tema.

12/28

**REFLEXIONANDO ...**

LA FÓRMULA DEFINITIVA DE LA VARIACIÓN QUEDA ASÍ:  $V_y = \left| \frac{\partial y}{\partial p} \right| |\varepsilon_p| + \left| \frac{\partial y}{\partial t} \right| |\varepsilon_t|$

**HAY DOS SUMANDOS SIMILARES, Y EN CADA UNO DE ELLOS DOS FACTORES:**

- a) El error  $\varepsilon$  de cada una de las dos mediciones
- b) La correspondiente derivada parcial

**DE DONDE PODEMOS AFIRMAR:**

- a) La imprecisión en la medida ha de ser reducida todo lo posible
- b) La magnitud de la desviación total varía con la zona de la función

**Importante !**

¿ Por qué tomamos valores absolutos ? : **ACOTACIÓN**  
 Luego, podemos conocer los **límites del error total**  
 La verdadera magnitud del error es más difícil de saber

**Dos observaciones**

Otra cosa es estar seguros de la validez de la fórmula empleada  
 Cuanto más complicada es ésta, tanta mayor posibilidad de error

Vamos ahora a un **NUEVO EJEMPLO** que nos resulta conocido: los intentos de estimación de la fracción de filtración glomerular renal, expresada en ml/minuto. En la figura 13/28 se presentan las dos fórmulas más empleadas a este fin en la actualidad, basadas en el uso simultáneo de dos variables: la creatinina en plasma en mg/dl, y la edad del sujeto expresada en años. También aquí aparecen elevados coeficientes multiplicadores, lo cual obliga a exigir alta precisión en la determinación de la creatinina y en la evaluación de la edad, en la que puede inducir a inexactitud el manejar “años cumplidos”. Al igual que hemos hecho en el anterior ejemplo, vamos también ahora a aplicar ambas fórmulas a un caso determinado, tal como nos lo muestra la figura 14/28, un varón de 50 años con 1 mg/dl de creatinina plasmática. Suponemos un error de 0.1 mg/dl para el valor de la creatinina y de un año para la edad.

La figura 14/28 nos explica el cálculo de la **acotación** de errores en ambas fórmulas. También hemos apuntado las derivadas obtenidas. En la figura siguiente nos ocuparemos del estudio de la **sensibilidad**. Los porcentajes de error relativo resultan ser muy similares como podemos apreciar.

En la fila superior de la tabla de la figura 15/28 encontramos los resultados obtenidos al aplicar cada una de las fórmulas. En las dos filas siguientes hemos mantenido fija la edad pero hemos variado la creatinina en 0.1 mg/dl,

13/28

**VOLVAMOS SOBRE UN CONOCIDO TEMA ...**

**2) LA FRACCIÓN DE FILTRACIÓN PLASMÁTICA**

---

**FÓRMULAS ACTUALMENTE UTILIZADAS**

**MDRD** (Modification of Diet in Renal Disease  
CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology...)

**MDRD**

$$FGe = 175 \times C^{-1.154} \times E^{-0.203} \times 0.742 \text{ (si Mujer) }^*$$

\* Para raza negra multiplicar por 1.212

**CKD-EPI**

$$FGe = Coef \times (C / Div)^{exp} \times 0.99^E$$

*FGe* = Filtr. Glom. estimado  
*C* = Creatinina sérica (mg/dl)  
*E* = Edad, en años  
*Coef* = 141 si V, 143.5 si M  
*Div* = 0.9 si V, 0.7 si M  
*exp* = -1.209 si (C/Div) > 1  
 Si (C/div) ≤ 1: *exp* = -0.411 si V,  
 o bien: *exp* = -0.329 si M

**COMENTARIOS**

- 1) Necesidad de un factor multiplicador
- 2) En consecuencia, multiplic. del error
- 3) ¿Coinciden ambos procedimientos?
- 4) Representan superficies alabeadas

Recordando el  
Artículo de los  
20.000 casos

14/28

**Vayamos por partes** Varón. Crp = 1. Edad = 50.  $\epsilon_c = 0,1$ .  $\epsilon_{ed} = 1$

**MDRD**  $FGe = 175 \times C^{-1.154} \times E^{-0.203}$  En las condiciones dadas, FGe=79.1

**Deriv. Parc.**

$$\left| \frac{\delta y}{\delta C} \right| = \frac{175 \times 1.154}{C^{2.154} \times E^{0.203}} = 91.28 \quad \left| \frac{\delta y}{\delta E} \right| = \frac{175 \times 0.203}{C^{1.154} \times E^{1.203}} = 0.32$$

**Error total (Acotación)**  $|V_y| = (91.28 \times 0.1) + (0.32 \times 1) = 9.45$  **(11.9 %)**

**CKD-EPI**  $FGe = 141 \times \left( \frac{C}{0.9} \right)^{-1.209} \times (0.99)^E$  En las condiciones dadas, FGe=87.4

**Deriv. Parc.**

$$\left| \frac{\delta y}{\delta C} \right| = \frac{141 \times 1.209}{(0.9)^{-1.209} \times C^{1.209}} \times (0.99)^E = 90.80$$

$$\left| \frac{\delta y}{\delta E} \right| = 141 \times \left( \frac{C}{0.9} \right)^{-1.209} \times (0.99)^E \times \ln(0.99) = 0.755$$

**Error total (Acotación)**  $|V_y| = (90.8 \times 0.1) + (0.755 \times 1) = 9.84$  **(11.3%)**

tanto por exceso como por defecto. En las dos últimas filas la creatinina es constante y lo que han variado han sido los años de edad. Puede apreciarse la considerablemente mayor variación del filtrado glomerular estimado, tanto absoluta como porcentual, cuando el error corresponde a la determinación de creatinina plasmática.

La siguiente figura 16/28 tiene por objeto presentar de forma gráfica la variación de los valores de la derivada de una función, que es una curva exponencial decreciente en este caso, según los puntos y las zonas de la misma.

Teniendo en cuenta que aquí va disminuyendo el valor absoluto de la tangente trigonométrica (negativa en todos los puntos de este ejemplo) de los ángulos que forman las distintas rectas tangentes a la curva con la dirección positiva del eje de abscisas, por lo que si consideramos que el signo negativo de dicha tangente es negativo es estos casos, resulta que su valor real va aumentando a medida que nos alejamos del origen de coordenadas.

**UN NUEVO EJEMPLO** se nos presenta en la figura 17/28 a propósito de los errores que se pueden cometer en los **implantes de lentes intraoculares (LIO)**, si las mediciones previas no han sido correctamente tomadas e incluso repetidas en su caso. Nuestro objeto ahora es mostrar la validez de la fórmula

15/28

**COMENTARIOS ...**      **Sensi-  
bilidad**      **Varón de 50 años y Crp = 1**

Se presentan los resultados, realizados uno a uno, con programa informático

Edad	Crp	MDRD	CKD-EPI
50	1	79.09	87.37
50	0.90	89.32 (+12.9%)	99.24 (+13.6%)
50	1.10	70.86 (-10.4%)	77.80 (-10.9%)
49	1	79.42 (+0.4%)	87.99 (+0.7%)
51	1	78.78 (-0.4%)	86.76 (-0.7%)

Las variaciones porcentuales en la medición de la creatinina influyen, por lo general, más que las que se producen en la evaluación de la edad

También hay que tener en cuenta que no se ha hecho uso aquí de la longitud de los intervalos formados al sumar o restar el error

**En este punto no hemos hecho uso de derivadas**

16/28

**EJEMPLOS DE DERIVADAS E INTERVALOS**

El valor de la derivada es el de la tangente trigonométrica que forma la recta con la dirección positiva del eje de abscisas. Aquí es negativa, por lo que al ir aumentando el ángulo (obtusos) su valor también lo hace

Los intervalos AB y CD son iguales

Puntos de contacto

Obsérvese (en ese caso) la "reducción" del valor absoluto de la derivada a medida que nos alejamos del origen, tanto entre los extremos de los intervalos como a lo largo del eje

**3) OTRO ASPECTO DEL TEMA: LAS LENTES INTRAOCULARES**

Fundamento y primeros pasos: ¿Cómo calcular la potencia de la lente intraocular?

**Aclaraciones**

**FÓRMULA de Fyodorov**

D, potencia en dioptrías de LIO  
 L, longitud axial globo ocular P,  
 posición lente intraocular K,  
 curvatura corneal en dioptrías  
 1336, índ. refrg. humores del ojo

$$D = \frac{1336}{L - P} - \frac{1336}{\frac{1336}{K} - P}$$

Unidad: el mm (salvo indicación contraria)

Tres variables: L, P, K. Sus derivadas parciales son:

$$\frac{\partial D}{\partial L} = -\frac{1336}{(L - P)^2}$$

$$\frac{\partial D}{\partial K} = -\frac{(1336)^2}{(1336 - KP)^2}$$

$$\frac{\partial D}{\partial P} = \frac{1336}{(L - P)^2} - \frac{1336 K^2}{(1336 - KP)^2}$$

En general, se cumple que:

$$\frac{\partial D}{\partial L} > \frac{\partial D}{\partial K} > \frac{\partial D}{\partial P}$$

Por lo que en error en la medida de L repercute más que el de K y P

de Fyodorov que continúa siendo útil pese al medio siglo transcurrido desde su obtención y a los indiscutibles adelantos técnicos, e incluso los avances conceptuales, en nuestros días.

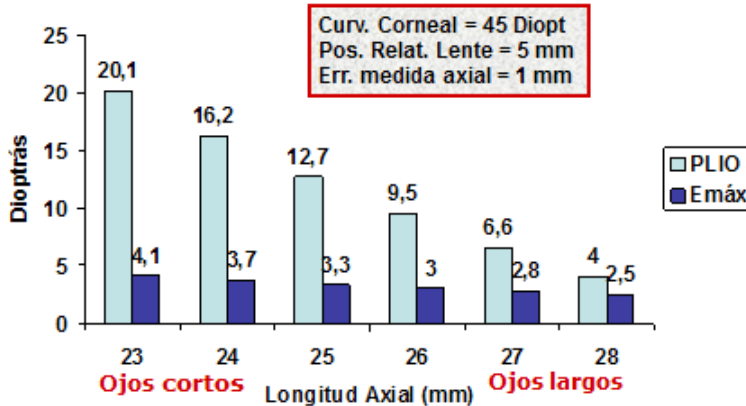
La medición de la longitud axial del globo ocular sigue siendo primordial a estos efectos ya que de los errores en su medida proceden los mayores desajustes de las lentes intraoculares. Los índices de refracción de los medios transparentes del ojo tampoco son iguales pese a que así figuran en la fórmula de Fyodorov, pero sus diferencias no influyen sensiblemente en los resultados.

En la figura 18/28 realizamos un estudio de sensibilidad similar a los presentados anteriormente.

Suponiendo constantes la curvatura corneal y la posición de la lente intraocular, ambas con los valores que se les asignan en la figura, el error máximo es tanto más elevado cuanto mayor haya de ser la potencia en dioptrías de la LIO.

Sin embargo no sucede lo mismo con el error relativo, que se va reduciendo mucho menos en proporción a la reducción de la potencia de la LIO.

## ERROR MÁXIMO SEGÚN LONGITUD AXIAL (LIO)



## VARIOS COMENTARIOS ...

- 1) Se han desarrollado multitud de fórmulas para el cálculo de **D**
- 2) Han sido muy "populares" las fórmulas de **regresión lineal**, como

$$D = A - (2.5 \times L) - (0.5 \times K) \quad \text{SRK}$$

Donde A es una constante que varía alrededor de 117, según tipo de LIO y según los valores de las variables L, P, K.

- 3) La **magnitud absoluta** del error es en general mayor en los llamados "Ojos cortos" ( $L < 22.5$  mm) que en los normales o en los "Ojos largos" ( $L > 24.5$  mm). La **relativa** es al revés.
- 4) Los avances de las técnicas de implante de LIO han proporcionado una **práctica exactitud total** a estos tratamientos, a la que ha contribuido la **informática aplicada** a los aparatos utilizados
- 5) El empleo de las denominadas "**matrices ópticas**" (de traslación, refracción y reflexión) ha supuesto una espectacular herramienta de trabajo y de cálculos informáticos instantáneos

De aquí que las fórmulas, que sucesivamente han sido empleadas en estos últimos 40 ó 50 años, muestren una gran variabilidad, hasta el punto de hacerse altamente conveniente el uso de aparatos de medición precisos tanto preoperatorios como intraoperatorios<sup>2</sup>.

En la figura 19/28 completamos los comentarios relativos a este ejemplo<sup>3</sup>.

Abordaremos, acto seguido, un **ÚLTIMO EJEMPLO** en el que no vamos a utilizar derivadas ni a realizar pruebas de sensibilidad. En él tratamos uno de los **problemas palpitantes** de la moderna Farmacocinética, en el que también es obligado citar a los Profesores Plá Delfina y Del Pozo Ojeda, así como a los geniales Loo y Riegelman que en la década de los setenta le suministraron una solución perfecta y llena de ingenio, pese a no disponer aún de los medios de precisión que actualmente nos proporcionan los análisis químicos ni de los potentes medios informáticos de que gozamos hoy día.

En la figura 20/28 suministramos los elementos precisos para enfocar el problema. Se trata de un aspecto de la **farmacocinética bicompartimental** de medicamentos administrados por **vía extravasal**, es decir: intramusculares, subcutáneos, en soluciones orales, en comprimidos, cápsulas, supositorios y un amplio etc.

En este modelo se considera al organismo formado por dos compartimientos: el llamado **central**, que es la sangre, y el denominado **periférico**, que abarca al resto del organismo. El aporte del fármaco puede realizarse por vía intravasal, es decir endovenosa por lo común, o extravasal según queda explicado.

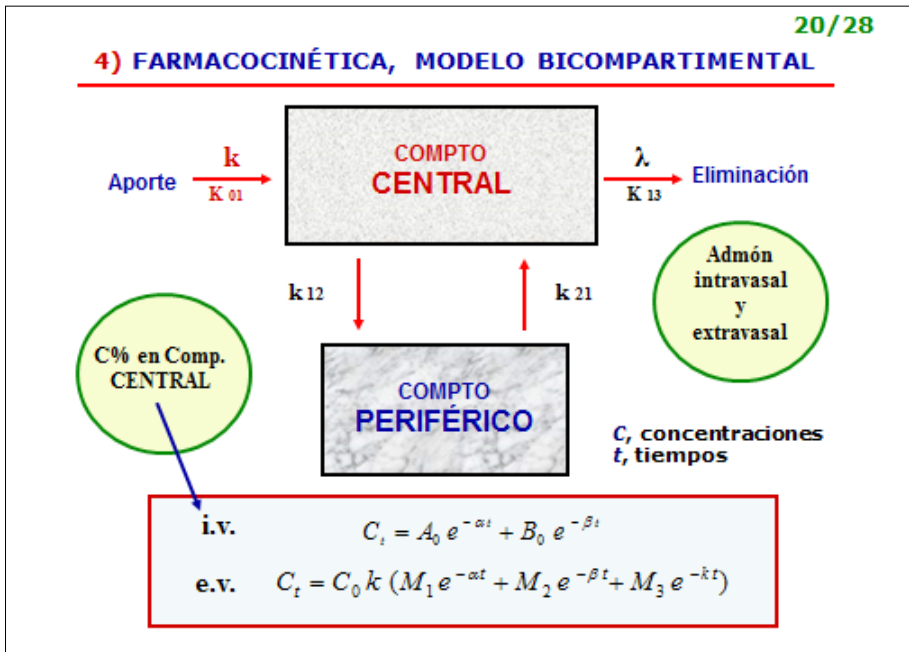
Las flechas rojas señalan el paso del medicamento de un compartimiento a otro. Las letras minúsculas que aparecen junto a las flechas son las "tasas" de la velocidad de paso en cada uno de los casos indicados. Aquí son equivalentes  $k$  y  $k_{01}$ , así como  $\lambda$  y  $k_{13}$ .

En el recuadro inferior de la figura se muestran las ecuaciones que proporcionan en cada tiempo  $t$  las concentraciones del producto administrado en el compartimiento central, y son el resultado de resolver las correspondientes ecuaciones diferenciales planteadas en condiciones de administración intravasal (i.v.) o extravasal (e.v.). Ahí la  $t$  que figura en los exponentes indica el tiempo transcurrido desde la administración (horas o minutos). El resto son valores, constantes para cada situación, que surgen en las soluciones de dichas ecuaciones diferenciales.

---

2. Agradecemos al Profesor y Académico de Número, Dr. D. José Ángel Cristóbal Bescós su autorizada aportación en el coloquio que siguió a la exposición de este tema.

3. Igualmente el autor agradece al Profesor de Óptica Física D. Justiniano Aporta las valiosas orientaciones recibidas, sobre todo en lo referente a las matrices ópticas.



Tiene especial importancia saber que a la solución de la i.v. se llega con relativa facilidad a partir de dos o más concentraciones sanguíneas determinadas en tiempos diferentes. La gran incógnita es  $k$  ó  $k_{01}$  cuya resolución puso a prueba el ingenio de los autores citados y de sus asesores matemáticos.

Es esencial conocer el hecho de que las constantes y valores que entran en la ecuación de la cinética i.v. son las mismas que las homónimas de la cinética e.v. Es decir, administrando a un mismo individuo una dosis determinada de un medicamento por vía i.v. y dejando el tiempo suficiente para que se elimine totalmente, si repetimos la misma dosis por vía e.v, los valores comunes de ambas ecuaciones son iguales, lo cual facilita la resolución de problemas.

En la figura 21/28, en cuya parte superior se encuentra de nuevo la ecuación que es ahora objeto de nuestro interés, se bosqueja el camino para resolverla (¡a partir de una sola determinación de su concentración en sangre!) Pero ya anticipamos que el problema al que tendremos que enfrentarnos para ello es disponer de medios de análisis químico con la suficiente precisión. Estamos, por lo tanto, ante un tipo de comentario totalmente distinto al de los de los ejemplos anteriores.



La ecuación ...  
(k es k<sub>01</sub>)

$$C_t = C_0 k (M_1 e^{-\alpha t} + M_2 e^{-\beta t} + M_3 e^{-k t})$$

Dado que  $M_1 + M_2 + M_3 = 0$ , hay aquí 5 incógnitas:  $\alpha, \beta, k, M_1, M_2$ . Puede resolverse a partir de 5 concentraciones en sangre, conocidos sus tiempos después de la administración así como la dosis administrada. (Complicado)

Pero, si disponemos de un ensayo previo i.v, conocemos ya  $C_0, \alpha, \beta, k_{21}$ , podemos reducirla a ecuación con una incógnita,  $k$ , ya que

$$M_1 = \frac{k_{21} - \alpha}{(k - \alpha)(\beta - \alpha)} \quad M_2 = \frac{k_{21} - \beta}{(k - \beta)(\alpha - \beta)} \quad M_3 = \frac{k_{21} - k}{(k - \alpha)(k - \beta)}$$

Con lo que la ecuación de arriba, debidamente “manipulada”, puede introducirse en un programa de ordenador y resolverse por un procedimiento iterativo, ya sea el denominado “de la secante”, ya el “regula falsi” u otro cualquiera

$$x_{n+1} = x_n f(x_n) \quad \text{! Iteraciones !}$$

Ello implica conocer un determinado tiempo y la correspondiente concentración, lo que permite realizar fácilmente varias soluciones. Hay que tener en cuenta también que el valor de  $k_{01}$  será diferente según forma y vía de aplicación

Para tratar correctamente este nuevo problema, el de la precisión necesaria, o sea el número adecuado de decimales que hemos de tomar, nada mejor que examinar la figura 22/28.

En ella vemos, en las cuatro primeras filas de resultados, los valores calculados en nuestro modelo de los parámetros que intervienen en la concentración plasmática de un medicamento administrado por vía intravascular:  $C_0, \alpha, \beta, k_{21}$ . Ya hemos dicho que para ello se necesitan varias determinaciones de concentraciones en sangre, que aquí oscilan entre la media hora y una hora a partir de la aplicación de la dosis. En las tres columnas de resultados figuran los valores calculados cuando hacemos uso respectivamente de 2, 3 y 4 decimales. Los datos de la última columna coinciden exactamente con los del modelo, construido de forma artificial tal como dijimos.

Los datos de la tabla de la figura 23/28 proceden de una construcción artificial realizada por Plá y Del Pozo<sup>4</sup>, correspondiente a dos administraciones e.v. de una misma dosis de medicamento, una en forma de solución acuosa y otra en cápsulas. Las concentraciones del fármaco en sangre aparecen con dos

4. Plá Delfina, J.M; Del Pozo Ojeda, A. “Manual de iniciación a la Biofarmacia”. Universidad de Barcelona. 1974.,

**PANORÁMICA DE RESULTADOS**

Recordemos que es una ecuación con una incógnita

i.v.	Con 2 decimales		Con 3 decimales		Con 4 decimales	
	t = 0.5 h.	t = 1 h.	t = 0.5 h.	t = 1 h.	t = 0.5 h.	t = 1 h.
<b>C<sub>0</sub></b>	15.90		15.694		15.70	
<b>Alfa</b>	1.16		1.119		1.12	
<b>Beta</b>	0.06		0.05		0.05	
<b>K<sub>21</sub></b>	0.49		0.471		0.4725	
<b>K<sub>01</sub></b>	1.17	1.17	1.174	1.176	1.1735	1.1735
<b>Iterac.</b>	5	7	5	7	5	7

¿ Con qué precisión contamos ? (Decimales)

decimales por lo que tenemos que operar exclusivamente con esas cifras. Los valores de  $k_{01}$  que en la tabla figuran, han sido calculados por nuestro método. Los valores exactos para la solución acuosa y las cápsulas están detallados en la parte superior a la izquierda de la figura en rojo y subrayados. Los valores obtenidos por Plá y Del Pozo, aplicando el método de Loo y Riegelman aparecen en la parte superior derecha. Es digna de observar la gran exactitud de estos últimos resultados, que discrepan tal solo en una diezmilésima de los nuestros.

En la figura 24/28 anotamos tan solo los resultados de nuestro ejemplo. Arriba, en negro, se incluyen los datos de que nos hemos servido para la construcción del modelo. En rojo está el valor de  $k_{01}$  inicial del mismo modelo. Ya hemos dicho que, a partir de la concentración en sangre en un solo tiempo determinado, podemos nosotros calcular el valor de  $k_{01}$ . Todos estos datos se muestran en la tabla de esta figura.

Llaman la atención varios hechos. En primer lugar, el valor exacto de  $k_{01}$  solo lo hemos obtenido en los tiempos iniciales: 0.5 y 1 horas. Esto se interpreta como que la precisión exigida idealmente al procedimiento no es suficiente. Además, es lógico que así sea, como lo suponen Loo y Riegelman, que este valor influye precisamente en los momentos iniciales de la cinética del medicamento: el paso del depósito extravasal al compartimiento central.

**VARIABILIDAD DEL VALOR DE K<sub>01</sub> (Plá y Del Pozo)**

Sobre datos de Plá y Del Pozo (Barcelona, 1974, p-206) Construcción artificial, sobre C<sub>0</sub>=13,  $\alpha=1.095$ ,  $\beta=0.045$ , K<sub>21</sub>=0.449  
K<sub>01</sub> acuoso=1.1551, K<sub>01</sub> cápsulas=0.8851  
 (Los asteriscos marcan EXACTITUD)

Las valoraciones de K<sub>01</sub> se han realizado con el método nuestro. Loo y Riegelman obtienen respect. Valores k = 1.155 y k = 0.885

En solución acuosa

En cápsulas

t (h.)	C <sub>t</sub> , mg / L	K <sub>01</sub>	Iter	C <sub>t</sub>	K <sub>01</sub>	Iter
0.5	4.94	1.2023	6	3.96	0.8950	7
1	6.42	1.1877	7	5.48	0.8800 *	10
2	6.19	1.1572 *	12	5.87	0.8746	18
3	5.33	1.1732	8	5.33	0.8503	38
4	4.71	1.1485	3	4.82	0.8204	13
6	4.03	1.1692	7	4.11	0.9014	4
8	3.64	1.1543 *	7	3.70	0.8685	11
12	3.03	1.1854	7	3.07	0.8937	16

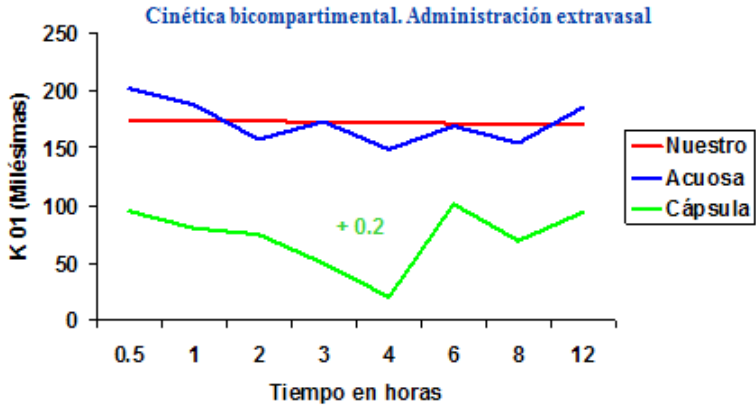
**VARIABILIDAD DEL VALOR DE K<sub>01</sub> (Nuestro caso)**

C<sub>0</sub>=15.7,  $\alpha=1.12$ ,  $\beta=0.05$ , K<sub>21</sub>=0.4725; Valor previo de K<sub>01</sub>=1.1735

t, en h.	C <sub>t</sub> (mg/l)	Val K <sub>01</sub>	Núm. iterac
0.5	5.8562	1.1735*	5
1	7.6989	1.1735*	7
2	7.4912	1.1740	13
3	6.4556	1.1715	9
4	5.6978	1.1722	4
5	5.2060	1.1720	6
6	4.8609	1.1714	7
8	4.3497	1.1710	9
9	4.1324	1.1707	7
12	3.5542	1.1706	7
18	2.6329	1.1707	7

## COMPARACION DE PROCEDIMIENTOS

Datos "linealizados"



Cálculo de  $K_{01}$

### COMENTARIO ANALÍTICO

Nos daremos cuenta mejor sometiendo los datos anteriores a un tratamiento estadístico muy simple. Veamos la Tabla de valores de  $k$ :

Observ	Núm. Ct	Media	Desv típ	Valor real
Nuestra	11	1.1719	0.00132	1.1735
Acuosa	8	1.1722	0.0187	1.1551
Cápsula	8	0.8730	0.0269	0.8851

#### COMENTARIOS

- 1) La media es lógico que esté algo por debajo del valor real
- 2) La desv. típ. es mucho mayor en los dos últimos casos
- 3) El "descenso" es "suave" solo en la primera observación
- 4) Mayores diferencias en las últimas observaciones
- 5) ¿Tuvieron Plá y Del Pozo un buen asesor matemático?
- 6) **La precisión en las medidas es fundamental**
- 7) Éste es el problema actual, que nos coloca ante el **CAOS**
- 8) Alabanza a Loo y Riegelman.

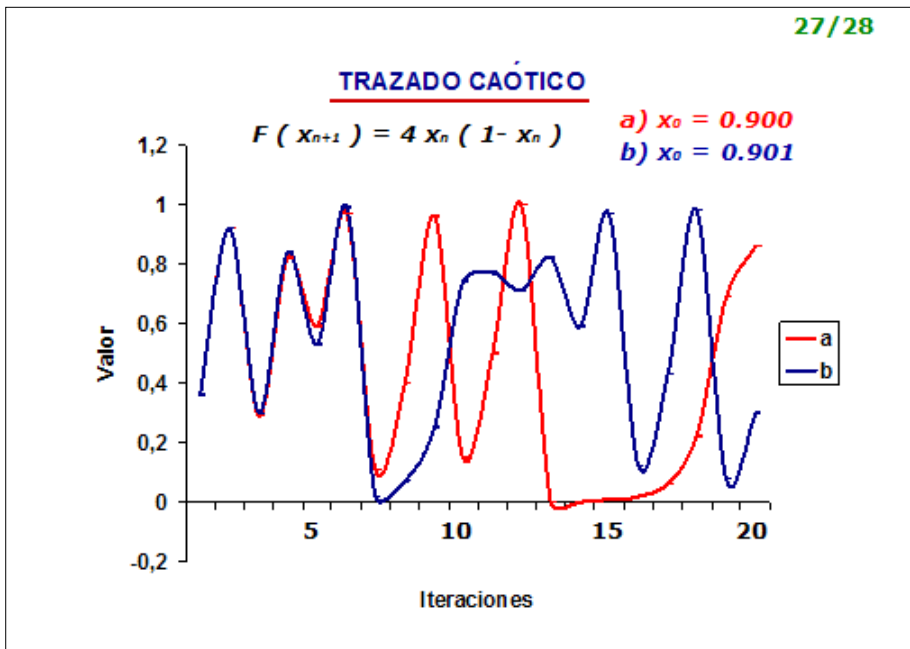
¿Significa esto que “fallan” las matemáticas? No ciertamente, sino que hacen falta más decimales para optimizar el modelo y por consiguiente para actuar en la realidad. Los valores, a medida que aumenta el tiempo de control, se van alejando de lo real y esto nos introduce plenamente en la teoría del caos, a la que nos referiremos brevemente antes de terminar.

En cuanto al número de iteraciones, que constan en la última columna, no hay que darle demasiada importancia ya que dependen del intervalo de valores que nosotros prefijemos al iniciar la resolución de la correspondiente ecuación.

En la figura 25/28 se compara gráficamente la uniformidad de los resultados en los diferentes tiempos de los valores de  $k_{01}$ , destacando evidentemente nuestro procedimiento.

Finalmente, en la figura 26/28, se evalúan y comentan estadísticamente estos mismos resultados, que arrojan los datos que a continuación mostramos.

No podemos dar por terminada nuestra exposición si no retomamos la cuestión del **caos** que ya se deja ver en las líneas precedentes y que tanta importancia creemos que tiene en Medicina. Veamos la figura 27/28.



Las dos líneas de distintos colores de trazado obedecen a los valores que adopta la ecuación señalada en negro en la parte superior de la figura. Cada punto es obtenido del último valor hallado sin más que aplicar dicha ecuación. Tan solo se diferencian en el valor inicial, que es una milésima superior en la línea azul. Se ve que hasta la iteración 7 existe una apreciable coincidencia, pero a partir de ella los trazados son mutuamente caóticos. Estos conceptos dan lugar a introducir en la teoría de errores las orientaciones que vemos en la figura 28/28.

**28/28**

**NUEVAS DIMENSIONES**

<b>NUEVAS TÉCNICAS:</b> Micro, Nano, Pico- <b>ERROR</b>	<b>EL LABORATORIO CLÍNICO:</b> Digitalizado, Informatizado. Técnicas Físicas y Químicas.
------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------

**LA IMPARABLE GENÉTICA:**  
Más bioinformática que biomatemáticas.  
Distintos procedimientos estadísticos.  
Diferentes concepciones de los problemas.

<b>EL ERROR FRACTAL:</b> Estadística robusta. Teoría de la señal. El caos ordenado.	
----------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------

<b>GRACIAS POR SU ATENCIÓN</b>	<b>E-mail:</b> <b>miguel.anderiz@gmail.com</b>
--------------------------------	---------------------------------------------------

Casi todos estos aspectos de la cuestión son otros tantos puntos de mira del tema que nos ha ocupado. Esperamos poder desarrollar algunos de ellos en fecha relativamente próxima.

Solo me resta agradecerles la inmerecida atención que me han dispensado y ponerme a su disposición.

Muchas gracias.

SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 1 DE OCTUBRE DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

LOCALIZACIÓN MORFOLÓGICA  
DE NEUROTRANSMISORES EN  
EL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO

POR EL  
PROF. DR. D. MANUEL LAHOZ GIMENO  
CATEDRÁTICO DE ANATOMÍA HUMANA DE LA FACULTAD  
DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

PRESENTADO POR EL  
ILMO. SR. D. ARTURO VERA GIL  
ACADÉMICO DE NÚMERO





Exmo. Sr. Presidente,  
Ilmas. e Ilmos. Compañeros miembros  
de esta Real Academia de Medicina de Zaragoza.  
Ilmas. Autoridades que nos acompañáis  
y honráis con vuestra presencia,  
Sras. y Sres.

Es para mí un honor pero también un gran placer, sin duda, comparecer ante este docto auditorio para presentar al Profesor Doctor D. Manuel Lahoz Gimeno.

Vaya por delante que se trata del Catedrático de Anatomía Humana que ocupa la Cátedra que dejó vacante el inolvidable Profesor René Sarrat Torreguitart, miembro que fue de número de esta Real Academia de Medicina de Zaragoza y que en paz descanse.

En consecuencia, el Profesor Lahoz es mi compañero en la docencia de Anatomía Humana de la Facultad de Medicina de Zaragoza quien además de compañero Universitario, desde siempre ha sido, sobre todo, un buen amigo y sigue siéndolo.

Esta Universidad y, en concreto, esta Facultad de Medicina de Zaragoza, siempre tuvo dos cátedras de Anatomía Humana y siempre hizo lo posible por mantenerlas dotadas y ocupadas por catedráticos. Conducta muy sana pues la alternancia promocional y la competitividad, han mantenido vivas la calidad docente e investigadora de este importante y básico capítulo de la formación de los médicos como piedra angular e imprescindible del conocimiento científico de la estructura del ser humano, sobre el que el médico está destinado a actuar con el fin de conservar su vida y salud.

El Monopolio no es bueno y suele conducir al dogma y este al estancamiento y a la regresión.

La Competencia es estimulante, revitalizadora y progresista, en el sentido científico y docente del mundo académico en que nos movemos. Ello, hace que haya sido sabia decisión y sabia política de nuestra Facultad de Medicina la de mantener, contra viento y marea, la dualidad de catedráticos en la enseñanza de la Anatomía Humana.

Si bien, reconocemos que también ha generado una historia de rivalidades a lo largo de la dilatada historia de nuestra Facultad que ya va camino de cumplir los 500 años de existencia. pero estas rivalidades nunca llegaron a demasiado... La mayoría de los presentes en este estrado hemos vivido la historia de nuestros muy Ilustres predecesores, los Profesores Escolar y Jiménez, ambos gloria de la Anatomía española y europea, y que, de vez en cuando, mantenían sus discrepancias en metodología docente e investigadora, pero ambas siempre válidas pues, en realidad, eran sobre un mismo hecho planteado desde distintos puntos de vista...

Pues bien: La pertenencia a la misma escuela y la integración en el mismo Departamento desde el principio, quizás limaron esos pequeños celos y rivalidades que solían existir entre ambas cátedras. En la actualidad, nadie podrá descubrir ni describir ningún signo de ellas entre el Profesor Lahoz y un servidor, porque el paso ya se ha dado. El ambiente departamental moderno ha permitido que la "autoritas" haya sido substituida por el compañerismo y que la rivalidad lo haya sido por la colaboración.

Por eso, no solo ha sido un honor sino un inmenso placer presentar aquí a mi compañero, más joven y que, por esa razón vital, deberá de recorrer el camino que yo he hecho antes y que, por tanto, yo estoy destinado a concluir mucho antes.

Ese es el servicio que todos debemos a las generaciones que nos deben de relevar, por lo que además de honor y placer, siento la satisfacción de ir cumpliendo con mis obligaciones de "Senior", con mi más leal saber y entender hacia el Junior...

Previo a presentar y glosar la figura del Profesor Lahoz permítaseme, aquí y ahora, darle la recomendación "ad futurum" de que él haga lo mismo cuando le toque y que no se deje seducir por cantos de sirena de reducción de Cátedras... ¡que los oirá!

Somos los herederos de una de las cátedras más antiguas de la Facultad de Medicina. Con la lección de Anatomía se inauguró la docencia de esta Facultad y de esta Universidad en un lejano día de San Lucas, mediado el siglo XVI. Hay tradiciones que es preciso mantener si queremos que las instituciones prevalezcan.

Doy por explicada la situación y mis sentimientos en este acto y, creo que ya es el momento de centrarme en presentar al Profesor Dr. D. Manuel Lahoz Jiménez.

Dentro del formal corsé de los "curriculae" universitarios al uso, comenzaré diciendo que:

El profesor Lahoz Nació el 10 de Mayo de 1956 en la Almunia de Doña Godina.

Cursó sus estudios de Bachiller en Zaragoza, concretamente en el Colegio Cardenal Xavierre, de los Dominicos.

Realizó su carrera de Medicina en la Universidad de Zaragoza.

Brillante estudiante, tuvo una buena dedicación y resultados en todas las disciplinas pero destacó, de manera especial, en las que tenían que ver con la estructura y función del sistema nervioso. En especial, en la Anatomía Humana de la que fue Jefe de mesa durante sus dos primeros años, para ser luego Interno Honorario e Interno Pensionado por oposición.

Al terminar su licenciatura en Medicina y Cirugía, un amplio abanico de posibilidades se abría ante él y, como siempre en su vida, lo sopesó todo, lo analizó cuidadosamente y decidió dedicarse a la base del conocimiento médico científico, esto es a la Anatomía Humana en la que, bajo la dirección de D. José Escolar, realizó su tesis doctoral y aprendió la labor docente e investigadora. Por ello fue ascendiendo en el “cursus honorum” y progresó sucesivamente a Ayudante de clases prácticas, Profesor Colaborador Contratado, Profesor Adjunto por oposición (transformado en profesor Titular por el cambio de legislación) y, finalmente a Catedrático de Anatomía Humana de la Universidad de Zaragoza.

Su inquietud por integrar los distintos aspectos de la forma y la función del Sistema Nervioso humano, le llevó a cursar también la carrera de Psicología, en la que se licenció en 1999, siendo así pionero en el concepto integrador actual de las Neurociencias.

Su labor docente e investigadora es ingente, su participación en enseñanza posgraduada es cuantiosa. Ha participado en 15 proyectos de investigación en diversas condiciones de responsabilidad, ha dirigido 10 tesis doctorales calificadas de Sobresaliente “cum laude”, ha publicado 32 artículos en revistas científicas de impacto, indexadas, y es coautor colaborador en dos libros.

Se le han reconocido 7 quinquenios de mérito docente y 4 sexenios de mérito investigador.

De entre sus líneas de investigación: Localización del Zn en distintas estructuras, Sistema Nervioso Autónomo, Biomagnetismo, Efectos de los campos magnéticos en neurona aislada de *Helix aspersa*, ha *elegido hoy el* Sistema Nervioso Autónomo para su conferencia.

Pero antes de dar paso a la misma, quiero matizar la frialdad estadística de sus datos curriculares con los aspectos humanos que de él conozco, desde hace mucho tiempo y de manera personal e intransferible.

Manuel Lahoz, sí que nació en La Almunia de Doña Godina, pero lo hizo en el seno de una gran familia precedido de dos hermanas y un hermano, la

familia del respetado médico titular de la Almunia, D. Laureano Lahoz y de Dña. Azucena Gimeno. Ello implica que desde la cuna recibió el influjo del ambiente médico en la más pura de sus condiciones, la asistencia directa a los miembros de una comunidad agrupados por familias.

Es un axioma bélico que las guerras las gana la infantería que es la que ocupa el territorio y que toda la tecnología sólo sirve para hacer posible este último acto. Siempre he mantenido que lo mismo ocurre en la medicina. La tecnología es muy importante pero sin el médico de familia, difícilmente llegamos al enfermo. Esa es la razón de que hoy, aquí, tenga un especial recuerdo para D. Laureano, a quien tuve el honor y también el placer de conocer, destacado médico de familia y rural, como hoy se les conoce, entonces de asistencia domiciliaria y titular de pueblo, pero que eran quienes resolvían todos los problemas de salud y solo lo que superaba los medios disponibles en la población atendida, era trasladado al medio Hospitalario de la Capital.

A Manuel Lahoz, ser el “benjamín” de la familia le privó de nacer en Hajar pero el hecho de tener la casa familiar, allí, le hizo entroncar, también, con la cultura y tradiciones del Bajo Aragón.

Como era frecuente entre los hijos de los médicos rurales, hubo de desplazarse a la capital para estudiar el bachiller y, posteriormente, la carrera de Medicina, pero las vacaciones escolares eran un buen motivo para volver al origen. No solo al familiar de Hajar sino al de nacimiento, La Almunia, y allí, Manuel Lahoz tuvo un extraordinario contacto e influjo que pienso que es lo que le hizo interesarse por la forma y función nerviosa del ser humano y... ¡Por el ajedrez!

Dio la casualidad de que la finca vecina a la de D. Laureano, en la Almunia, era propiedad del Profesor D. Ramón Rey Ardid, que pasaba largas temporadas estivales allí. D. Ramón no tenía descendencia y, sin duda, encontró un entretenimiento y un desafío en enseñarle a aquel crio, hijo de su vecino y buen amigo, a jugar al ajedrez. D. Ramón tenía la categoría de maestro internacional en ese juego y fue campeón de España múltiples veces...

Sin duda Manuel tuvo muy buen maestro y es un contrincante temible jugando al ajedrez. Lo sé por experiencia propia... Dicho esto, añadiré que tampoco es manco jugando al tenis.

Yo conocí personalmente a Manuel Lahoz en la casa de sus padres en Hajar, un viernes Santo. Mi tío y padrino, Arturo Gil Buenacasa, había sido compañero de carrera de D. Laureano, les unía una gran amistad y nos había invitado a ver la procesión. Yo allí conocía a un compañero de bachiller, sobrino de D. Laureano, que me hacía los honores de la casa y al presentarnos a la familia menuda, según entraban y salían de la casa en día tan ajetreado en Hajar, encontré por primera vez a Manuel (entonces Manolín o Manolo) pero me temo

que en aquel primer encuentro no nos prestamos demasiada atención. Él para mí era el crío pequeño de aquella familia y yo, para él, el sobrino de D. Arturo, el amigo de sus padres, un “mayor” como su primo Sauras...

¡Incomunicación generacional!

La siguiente vez que nos encontramos, muchos años después, si que sabíamos ambos quiénes éramos. Yo era un joven Adjunto de Anatomía Humana. discípulo del gran Maestro D. José Escolar, que estaba en período de “opositor”. El comenzaba Medicina.

Manuel, era un estudiante brillante, elegante y discreto. Tenía un gran *savoir faire*, fui testigo de primera línea de su paso por el *cursus honorum* anatómico, como Jefe de Mesa, Interno honorario y pensionado, Ayudante de clases prácticas y posteriormente Adjunto de Cuerpo por oposición, Profesor Titular por transformación y, finalmente, Catedrático de Anatomía Humana que ha ocupado la clásica cátedra B de nuestro Departamento de Anatomía e Histología Humana.

Siempre he tenido en él un amigo leal y auténtico a lo largo de toda nuestra, ya larga, relación personal y profesional.

Para terminar su semblanza, diré que estoy presentando, hoy y aquí, no sólo a un gran profesor y científico sino a un gran compañero y amigo que merece sinceramente esas calificaciones.

He dicho.



## **LOCALIZACIÓN MORFOLÓGICA DE NEUROTRANSMISORES DEL SISTEMA NERVIOSO AUTÓNOMO**

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina,  
Excmos. e Ilmos. Académicos,  
Señoras y Señores.

En primer lugar, debo agradecer a esta ilustre Institución el honor que me concede de poder presentarme ante ustedes y la oportunidad de participar en esta sesión científica.

En segundo lugar, a los que fueran mis maestros, el Profesor D. José Escolar García, y al Profesor D. René Sarrat Torreguitart, que ambos fueron miembros de esta Academia, y que siempre recordaremos. Como último discípulo directo y último Profesor Adjunto de D. José Escolar, debo agradecer y recordar siempre su infatigable dedicación para mi formación, como para todos los discípulos de su Escuela.

Asimismo, quiero agradecer su interés al Profesor D. José Manuel Gómez Beltrán, actualmente miembro de esta Academia, con el que tuve la oportunidad de compartir unos años de docencia y que siempre me ha manifestado su apoyo y amistad.

Y naturalmente, debo agradecer mi presencia aquí y sus palabras siempre afectuosas, al profesor D. Arturo Vera Gil, que ha pasado de ser mi profesor, mi maestro, a compañero y siempre amigo, y que no creo equivocarme si digo que le hace tanta ilusión a él como a mí mi comparecencia de hoy ante ustedes.

La presentación que tengo el honor de impartir es una pequeña parte de un tema como es el de la localización morfológica de neurotransmisores utilizados en el Sistema Nervioso Autónomo, y al que he dedicado algunos años de mi actividad investigadora.

Sin pretender abarcar todas las estructuras inervadas por el SNA, ni todos los neurotransmisores implicados, expondré simplemente algunos de ellos, que nosotros hemos estudiado.

En los años 90 iniciamos una fructífera colaboración de investigación con la Profesora Aísa, de la que no podría olvidarme en estos momentos.



Incorporamos a nuestro trabajo la inervación peptidérgica, que en aquellos momentos no se conocía si participaba en la inervación autónoma. No se consideraban otras sustancias neurotransmisoras que la acetilcolina y la adrenalina o la noradrenalina.

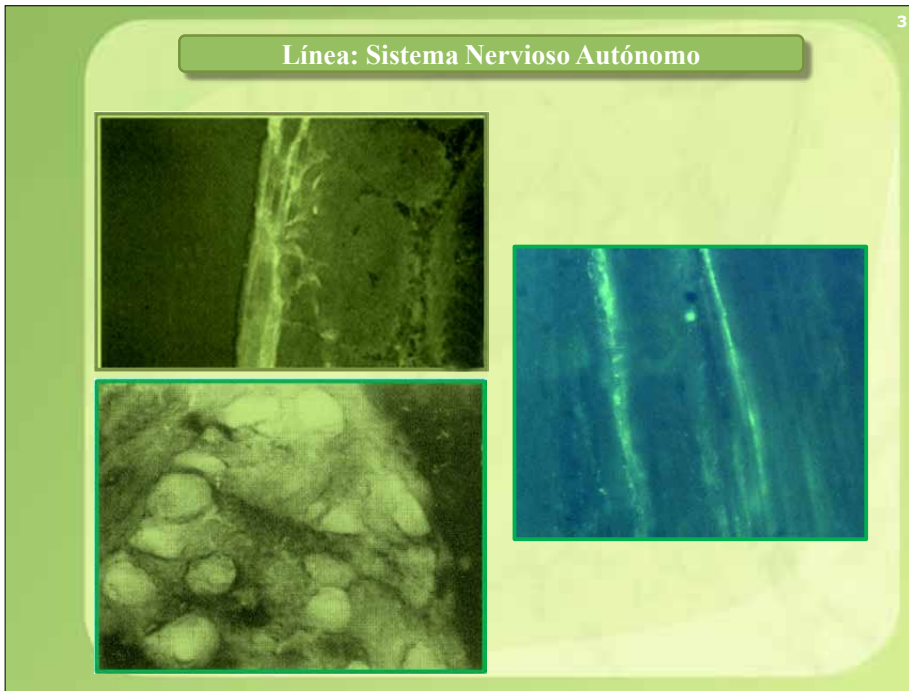
Además estas inervaciones las completamos y corroboramos con un estudio ultraestructural profundo del sistema nervioso entérico.

El Sistema Nervioso Entérico (SNE) de las aves consta, igual que en el resto de los vertebrados, de un componente intrínseco y otro extrínseco.

La distribución general de la inervación autónoma extrínseca de las aves no difiere mucho de la de los mamíferos. No obstante, el camino por el cual estos nervios llegan al tubo digestivo es diferente en las aves, ya que éstas tienen un nervio intestinal prominente (nervio de Remak), que es un tronco nervioso mixto simpático y parasimpático.

Este nervio intestinal discurre por el mesenterio paralelamente a todo el intestino, como observamos en esta imagen paralelo a la pared del recto y penetrando por la muscular longitudinal.





Los cuerpos celulares de los que partirán las fibras postganglionares están escalonados a lo largo de este nervio, generalmente formando agrupaciones que pueden verse macroscópicamente porque constituyen unos ensanchamientos a modo de cadena ganglionar.

La complejidad neuroquímica del Sistema Nervioso Entérico aumenta al añadirse a los neurotransmisores clásicos de pequeñas moléculas como la acetilcolina y la noradrenalina, las grandes moléculas de péptidos. Los primeros en sugerir la existencia de axones peptidérgicos fueron Baumgarten et al., y podrían corresponder a los componentes no colinérgicos y no adrenérgicos postulados por Burnstock.

Para estudiar el componente de la actividad colinesterásica se empleó el método de la Acetilcolinesterasa de El Badawi y Schenk.

Las muestras se congelaron en Metilbutano inmerso en nitrógeno líquido, obteniéndose secciones de 15 micras en un criostato SLEE modelo HR. La incubación se realizó con yoduro de acetilcolina como sustrato.

Los sitios de actividad colinesterásica positiva se reconocen por la formación de un precipitado marrón.

**Actividad colinesterásica AchE**

4

**MÉTODO DE EL BADAWI Y SCHENK**

- **CONGELACIÓN METILBUTANO/ N LÍQUIDO**
- **SECCIONES 15-20 MICRAS**
- **FIJACIÓN EN FORMOL/PBS, 15' 4°C**
- **INCUBACIÓN ACETILCOLINA, 4-12h, 37°C**
- **VISUALIZACIÓN M.O**

**Actividad catecolaminérgica F.I.F.**

5

- **CONGELACIÓN METILBUTANO/ N LÍQUIDO**
- **CORTE EN CRIOCUT A 20 MICRAS**
- **FIJACIÓN GLIOXÍLICO/PBS 2% , pH 7'1**
- **EXPOSICIÓN DE LOS PORTAS A LOS VAPORES DE PARAFORMALDEHIDO EN POLVO EN VASIJA HERMÉTICA A 80°C, ENTRE 1-3h.**
- **VISUALIZACIÓN M.O. DE FLUORESCENCIA.**

Se realizaron dos tipos de control: 1.- Incubación en el medio libre de sustrato. 2.- Incubación en el medio con tetraísopropilpirofosfamida (ISOOM-PA, Sigma), para controlar la especificidad.

La técnica de AchE sobre cortes congelados nos proporciona unas imágenes muy claras para la localización de los plexos.

Con el fin de determinar el comportamiento catecolaminérgico se utilizó el método de fluorescencia inducida por paraformaldehído.

Secciones congeladas del tejido se fijaron por inmersión en ácido glioxílico.

A continuación se expusieron a vapores de paraformaldehído 1-3 horas a 80°C en un recipiente hermético.

Seguidamente se examinaron bajo un microscopio de fluorescencia.

Este componente neuronal se caracteriza por producir una fluorescencia verde al exponer la preparación a la luz ultravioleta.

La exposición a los vapores de paraformaldehído durante una hora pone de relieve fundamentalmente las fibras noradrenérgicas, y la exposición durante 3 horas, las fibras adrenérgicas.

6

**Actividad peptidérgica VIP y SP**

**Inmunofluorescencia indirecta**

- **FIJACIÓN EN A. PÍCRICO SATURADO Y FORMALDEHÍDO**
- **DESHIDRATAR Y REHIDRATAR**
- **DELAMINACIÓN**
- **TRITÓN X-100 0.4% EN PBS 30'.**
- **INCUBAR CON ANTISUERO PRIMARIO**
- **LAVAR Y REVELAR ANTISUERO SECUNDARIO CON F.I.T.C.**
- **VISUALIZACIÓN M.O. DE FLUORESCENCIA.**

La determinación del componente nervioso peptidérgico se llevó a cabo mediante el método de inmunofluorescencia indirecta aplicado sobre láminas "in toto".

Estas láminas se obtuvieron bajo lupa iluminada con luz fría con ayuda de material microquirúrgico, lo que nos permitía separar ambas musculares, quedando el plexo mientérico sobre la longitudinal. Por otro lado el plexo submucoso lo hemos puesto de relieve sobre la muscular circular, al separar y extraer la lámina propia y la muscularis mucosa que lo cubren.

La incubación se realizó con el antisuero primario frente a VIP o frente a Sustancia P y el antisuero secundario combinado con isotiocianato de fluoresceína.

De la misma manera que las fibras adrenérgicas, se visualizan con el microscopio de fluorescencia.

Para la microscopía electrónica se realizó la técnica estándar. Las muestras de tejido se fijaron en glutaraldehído y continuaron fijándose en tetróxido de osmio y se incluyeron en araldita.

Con el fin de localizar las estructuras nerviosas constituyentes de los plexos, se realizaron cortes semifinos que se tiñeron con azul de toluidina.

Con los métodos descritos estudiamos los distintos componentes del nervio intestinal de Remak.

Vemos como referencia algunos cuerpos neuronales teñidos con hematoxilina eosina.

El componente Acetilcolinesterasa positivo en una zona ganglionar del nervio aislado.

El componente adrenérgico FIF positivo en este caso, acompañando a un vaso sanguíneo para llegar a la pared del tubo digestivo.

El componente peptidérgico, en este caso, con fibras nerviosas y una pequeña cadena de cuerpos celulares VIP positivos en este nervio aislado.

Aunque, en principio se puede aceptar que una reacción Acetilcolinesterasa positiva es indicativa de inervación colinérgica y FIF positiva de inervación adrenérgica, para mayor seguridad realizamos un estudio de microscopía electrónica del nervio de Remak donde comprobamos:

En la zona ganglionar del nervio:

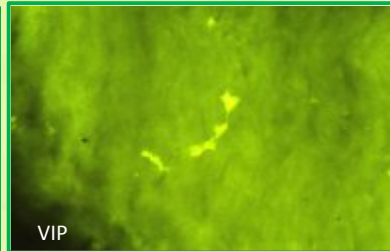
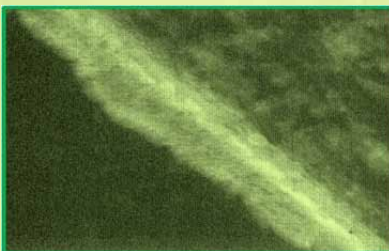
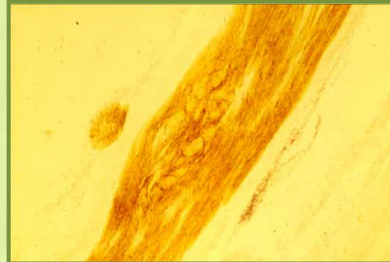
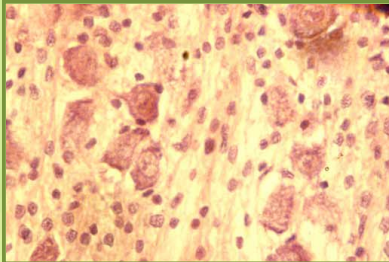
Una sinapsis con vesículas colinérgicas.

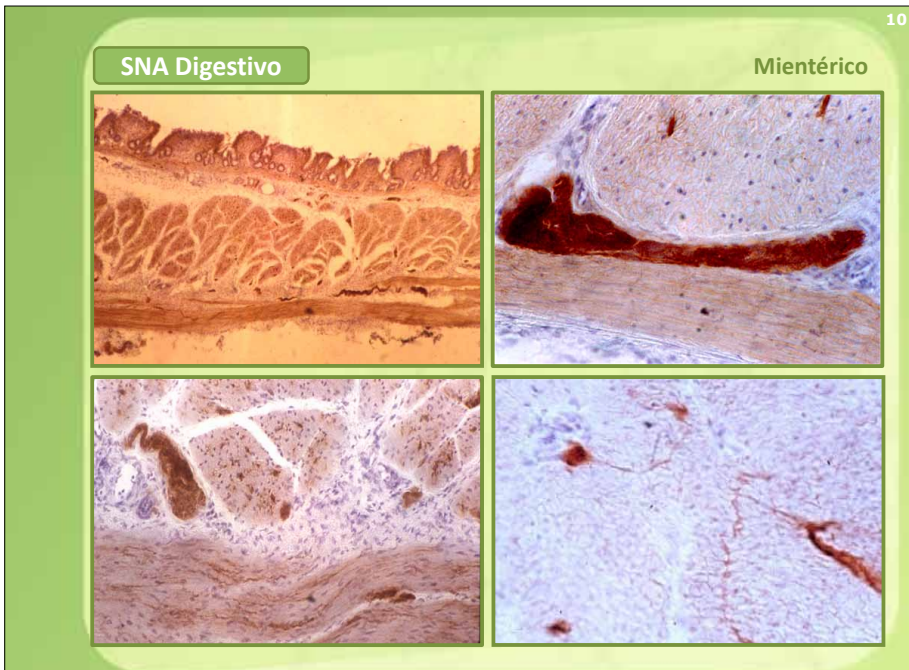
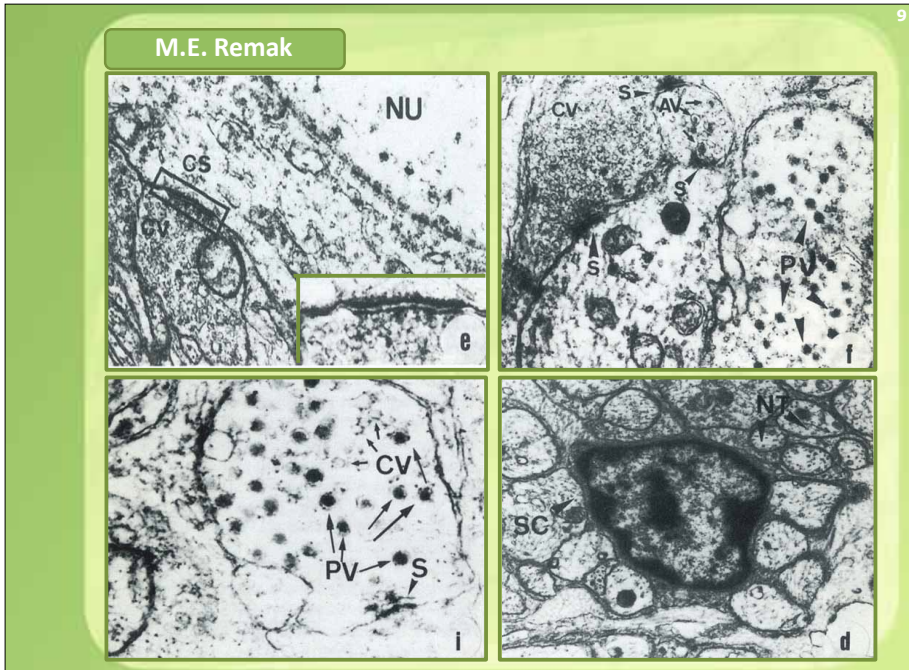
Así como distintas varicosidades conteniendo diferentes tipos de vesículas. Una sinapsis con vesículas colinérgicas, otra con vesículas adrenérgicas y una varicosidad con vesículas peptidérgicas.

7  
**Microscopía electrónica**

- **FIJACIÓN EN GLUTARALDEHÍDO**
- **TETRÓXIDO DE OSMIO AL 2%.**
- **DESHIDRATAR EN ACETONA**
- **ACETATO DE URANILO AL 70% EN ACETONA FRÍA**
- **ARALDITA**

8  
**SNA Nervio Remak**





Comprobamos asimismo lo que se ha llamado cotransmisión observándose terminales mixtos colinérgicos y peptidérgicos.

En este sentido, Chubb et al. indicaron que las fibras nerviosas positivas para la SP podían dar reacción positiva para la AchE. Esto sería concordante con nuestros resultados, ya que la microscopía electrónica pone de relieve la presencia de estas varicosidades mixtas conteniendo vesículas de tipo colinérgico y de tipo peptidérgico.

Mientras que en la zona entre dos ganglios observamos células de Schwann y troncos nerviosos.

Parece ser, según diversos autores, que el efecto inhibitorio del transmisor simpático se ejerce sobre el terminal del axón colinérgico mediante interacción axo-axónica. En este sentido, nosotros hemos observado una sinapsis entre una terminación adrenérgica y una colinérgica.

Todo ello concuerda con el hecho de que:

Las vesículas más abundantes son de tipo colinérgico. Son pequeñas (300-400 Å) y claras.

Y las menos frecuentes, las de tipo adrenérgico. Son pequeñas, aunque algo mayores, (400-600 Å), y con halo claro.

Las de tipo peptidérgico son de gran tamaño (700-1000 Å) y electrondensas.

Ya en las paredes del tubo digestivo, estudiamos la inervación colinérgica.

En una imagen panorámica de la pared del recto vemos la capa muscular longitudinal, la circular y la submucosa con troncos y fibras nerviosas.

A mayor aumento, abundantes ganglios mientéricos de gran tamaño, de los que parten gruesos troncos nerviosos en ambas direcciones.

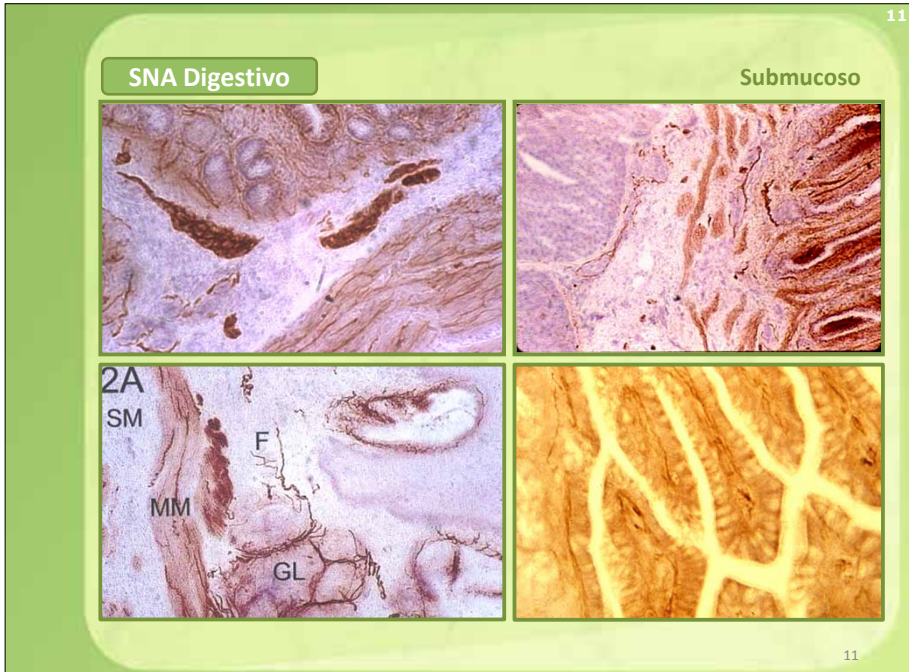
De ellos se derivan finas fibras que inervan ambas capas musculares, a veces acompañadas de algún cuerpo celular.

El plexo submucoso tiene menos elementos nerviosos que el mientérico.

Los ganglios son más pequeños, y de ellos parten troncos, que atravesando la muscularis mucosae van a inervar la mucosa, en la que puede observarse su llegada a la base de las glándulas e incluso hasta el epitelio.

Por otro lado, se ven fibras que interconectan con las de la muscular circular.

Para observar la distribución tridimensional de la inervación colinérgica de los plexos en su conjunto, se ha realizado la delaminación de la pared en algunos tramos del tubo digestivo como del esófago o del recto.



12

**Distribución tridimensional de los plexos**

**Delaminación**

- **FRAGMENTOS EN CORCHOS**
- **FIJACIÓN GLIOXÍLICO 2% , pH 7 , 30 min.**
- **DELAMINACIÓN**
- **POSTFIJACIÓN FORMOL/PBS 10% 5 min.**
- **INCUBACIÓN MEDIO ACETILCOLINA**
- **DESHIDRATACIÓN**
- **VISUALIZACIÓN M.O.**

12



Una vez obtenidas estas láminas que contienen los plexos “in toto”, de la manera que hemos indicado anteriormente, la técnica histoquímica de la AchE llevada a cabo sobre ellos, es similar a la realizada sobre cortes.

En las preparaciones “in toto” puede observarse esta distribución tridimensional de los plexos, como estas imágenes del plexo mientérico, con la muscular longitudinal, la circular y un ganglio del plexo mientérico.

A mayor aumento, cuerpos celulares, y una larga fibra nerviosa.

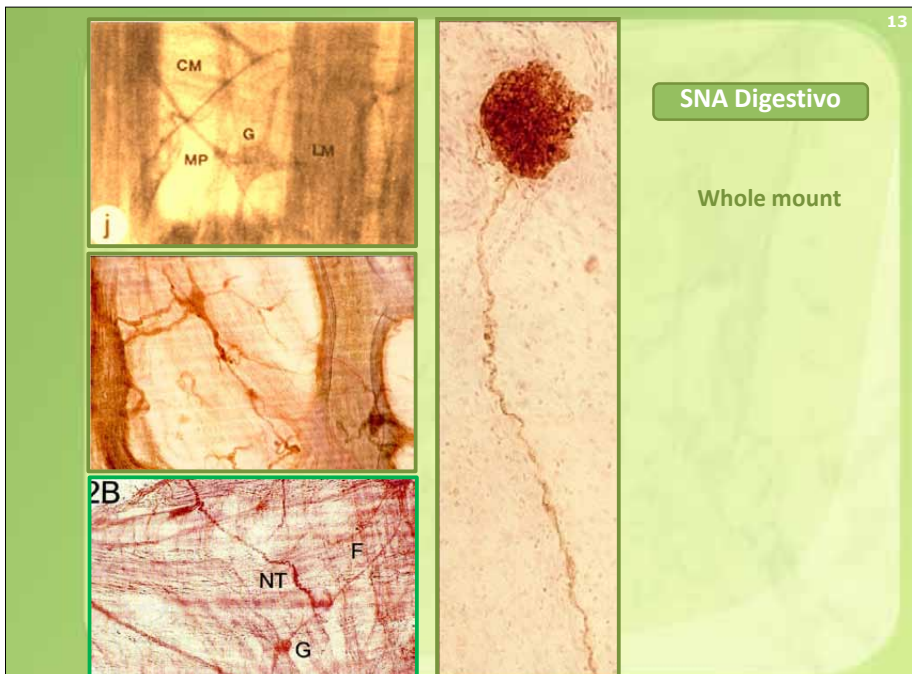
En el plexo submucoso los ganglios son más pequeños y de ellos parten troncos nerviosos que se ramifican en finas fibras en todas las direcciones.

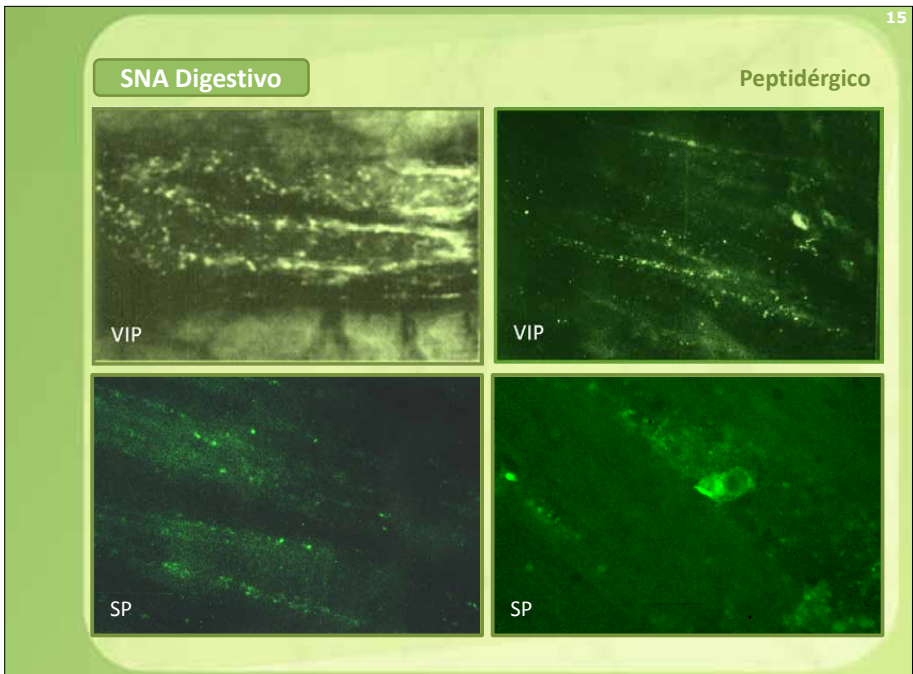
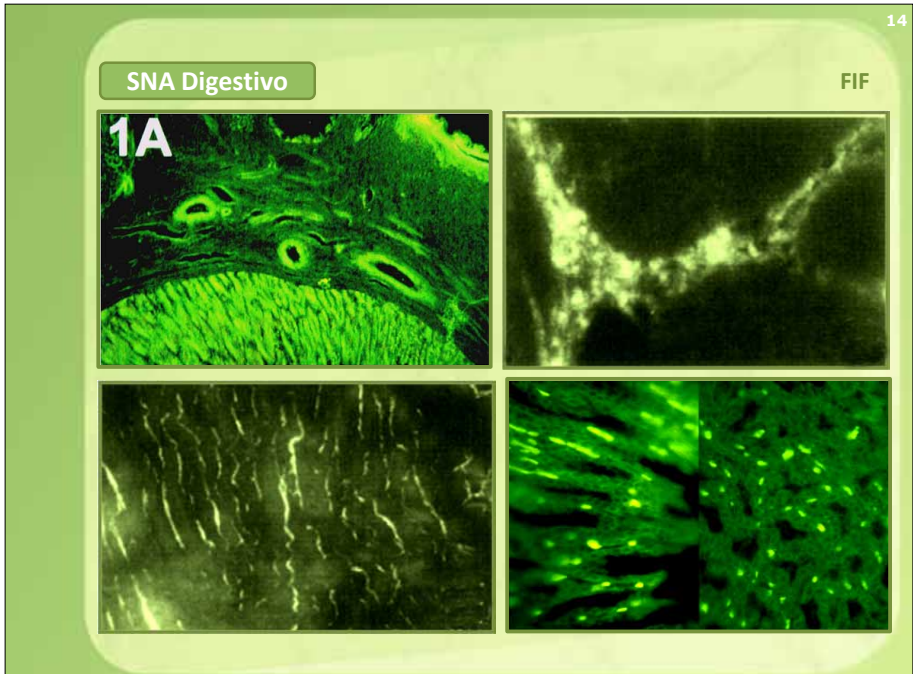
Estas fibras se dirigen por un lado hacia la muscular circular, y por otro a la muscularis mucosa.

Fibras adrenérgicas se observaron también en todas las capas:

Ganglios del plexo mientérico, con fibras y algún cuerpo celular hacia ambas musculares.

Y en la mucosa en cortes transversales y longitudinales, paralelamente a los túbulos glandulares.





Ante la controversia sobre si la catecolamina predominante en los nervios adrenérgicos de las aves es la noradrenalina o la adrenalina, nuestros trabajos se inclinan hacia la primera postura, ya que los mejores resultados los obtuvimos con una exposición a los vapores de paraformaldehído de 1 hora, y según Bennet, este tiempo corresponde al revelado de la noradrenalina.

En cualquier caso, el componente adrenérgico y noradrenérgico del Sistema Nervioso Entérico no es tan amplio como el componente colinérgico. Estos datos morfológicos pudieran apoyar los datos fisiológicos que indican que la relajación que se produce en tubo digestivo por estimulación del simpático se debe a la supresión de la estimulación colinérgica más que a la acción directa de la noradrenalina sobre las fibras musculares lisas, que como ya hemos indicado, resulta coherente con los hallazgos de la microscopía electrónica en el nervio de Remak.

Respecto a la inervación peptidérgica, las fibras nerviosas son mucho más delgadas y sinuosas, como estas fibras VIP+ en la entrada en la pared del recto en la muscular longitudinal.

Y en el plexo mientérico con fibras y cuerpos celulares.



Esta inervación peptidérgica también la comprobamos con la positividad para la Sustancia P con fibras en ambos plexos.

Y esta otra imagen con un cuerpo celular Sustancia P positivo.

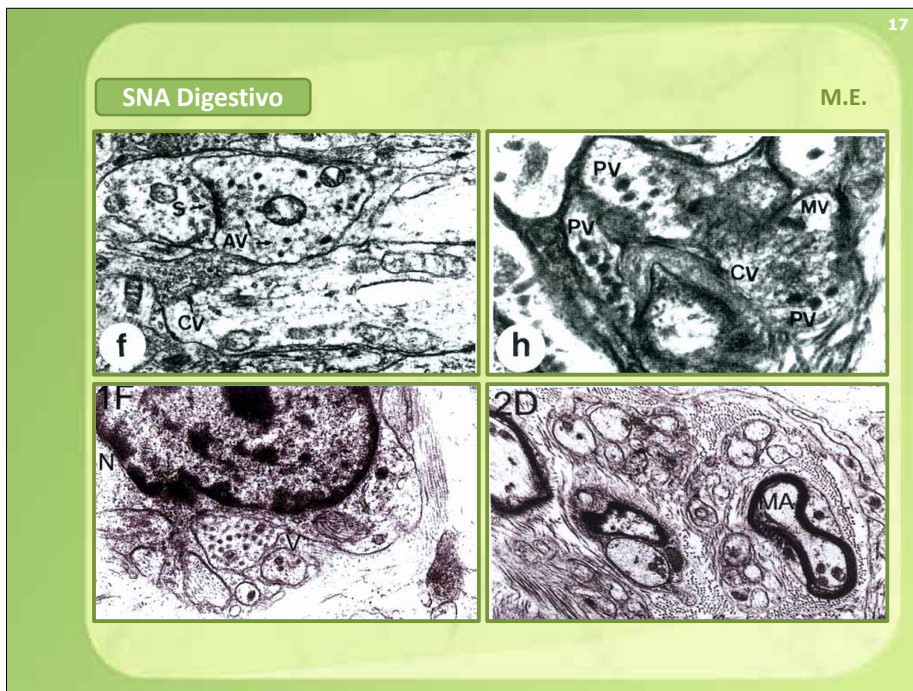
En cortes semifinos teñidos con azul de toluidina hemos observado con más detalle la estructura de estos ganglios del plexo mientérico y del submucoso.

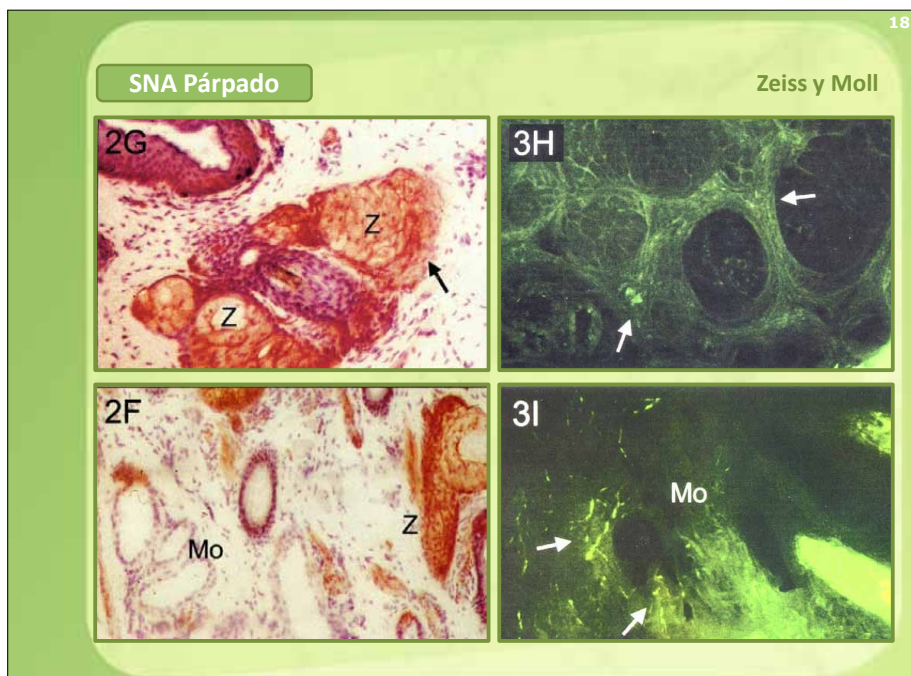
Son compactos y contienen numerosos cuerpos celulares de gran tamaño que no tienen apetencia por el azul de toluidina, con núcleo grande que contiene un nucléolo prominente que se tiñe con el colorante.

Comprobamos dicha inervación al microscopio electrónico.

Un tronco entre ambas musculares con varicosidades conteniendo vesículas adrenérgicas próximas a una sinapsis y otra varicosidad conteniendo vesículas colinérgicas.

Y distintas varicosidades: algunas con vesículas peptidérgicas, y otras mixtas con peptidérgicas y colinérgicas.





Un cuerpo celular en contacto con una varicosidad axonal mixta (colinérgica y peptidérgica).

Y un tronco nervioso con algunos axones mielinizados.

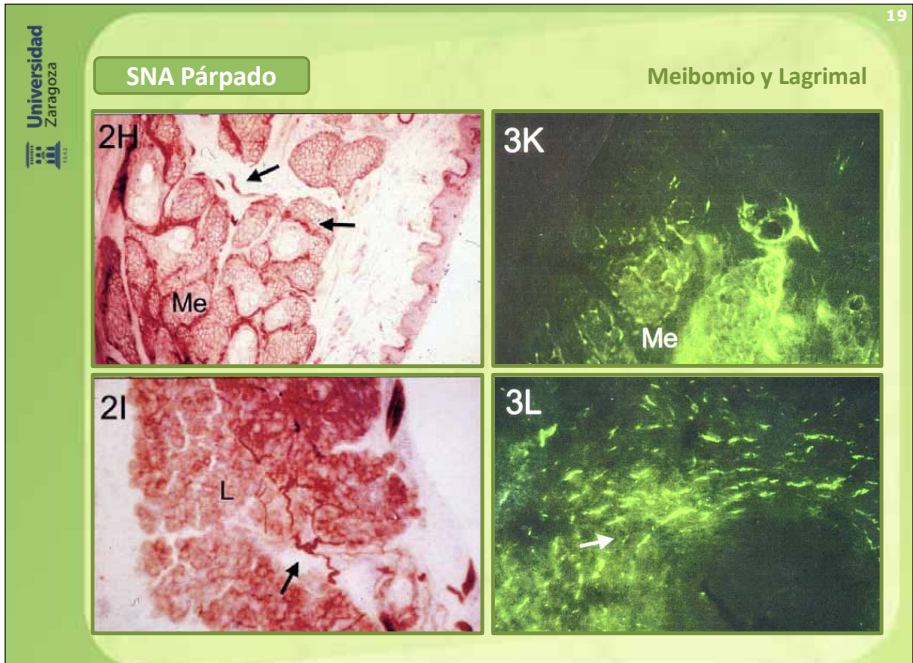
Dejando el aparato digestivo, el siguiente artículo trata de la inervación del párpado de la oveja. Describe por primera vez la inervación de algunas estructuras del párpado, como las glándulas de Moll y de Zeiss, además de estudiar el patrón de inervación del párpado en su conjunto.

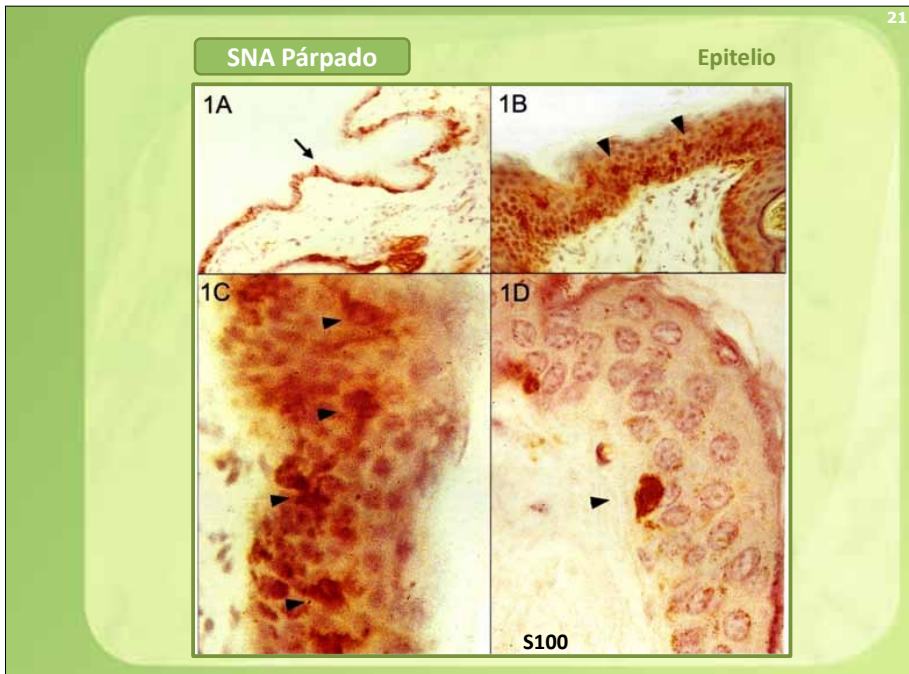
En las glándulas de Zeiss que se abren en los folículos, la inervación Acetilcolinesterasa positiva es mucho más abundante que la FIF.

Por el contrario, las glándulas sudoríparas de tipo apocrino de Moll, que desembocan en los folículos, presentan más densa inervación adrenérgica que acetilcolinesterasa, prácticamente ausente.

La glándula sebácea de Meibomio, presenta una rica inervación de ambos componentes.

Y lo mismo podríamos decir de la glándula lagrimal en la que observamos la inervación Ache+, y troncos nerviosos FIF+ en el conectivo de la glándula.





Por parte de la musculatura estriada vemos naturalmente la inervación colinérgica, y un mayor detalle de una placa motora.

Mientras que no se observa ninguna inervación a nivel de las células caliciformes de la mucosa.

Sin embargo, se observan pequeñas fibras noradrenérgicas en la base de estas células caliciformes.

En el epitelio aparecen células Acetilcolinesterasa positivas, y ya en este trabajo hicimos una primera aproximación al estudio de la inmunorreactividad para la proteína S100 que estudiamos en un trabajo posterior, pero que aquí ya vemos que la técnica de PAP demuestra que solo algunas de las células AchE+ localizadas en la base del epitelio son S100 ir.

Para la realización del método de peroxidasa – antiperoxidasa utilizamos:

- Como antisuero primario: Antisuero de conejo anti S100.
- Como antisuero secundario: Antisuero de cabra anti IgG de conejo.
- Incubación con el complejo PAP.

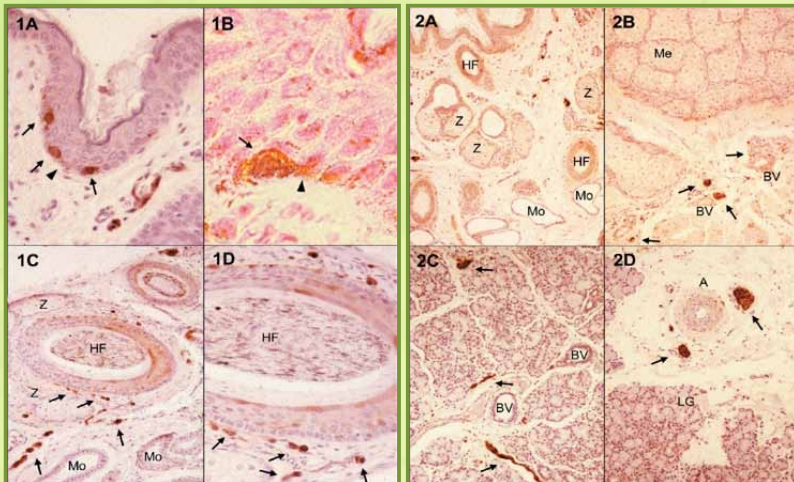
**SNA Párpado**

**Método PAP para m.o.**

- Las secciones de los bloques de parafina se sumergieron **5 minutos en xileno** y se rehidrataron pasándolas por soluciones de Etanol de concentración decreciente desde 100% hasta agua destilada.
- A continuación se mantuvieron 30 minutos en una solución de agua oxigenada al 0.3% en PBS para **bloquear la peroxidasa endógena**.
- Luego se lavaron 3 veces en PBS
- Para llevar a cabo el **Background blocking** se tuvieron 30 minutos en cámaras húmedas añadiendo sobre las secciones gotas de normal goat serum 1/30.
- Sin aclarar, se quitó con una pipeta el exceso de la solución de suero y se añadieron gotas de la solución del **antisuero primario**: S100 1/50 rabbit antibody policlonal (DAKO Z0311) durante 1 hora a temperatura ambiente
- Rinse en PBS 3 veces durante 5 minutos
- Seguidamente se incubaron con el **antisuero secundario**: conjugated goat antirabbit 1/10 (VECTOR, ABC kit peroxidase IgG rabbit) durante 30 minutos
- Nuevo pase por PBS 3x 5 minutos
- A continuación se expusieron las secciones durante 30 minutos a la acción de la **PAP 1/50**
- Dos nuevos lavados en PBS 5 minutos
- Y Tris Buffer 0,05 M pH 7.6 una vez. (DAKO DAB- K3468).
- Seguidamente se procedió a la incubación en **DAB**: 50 mgm DAB/100 cc.
- Nuevo Tris Buffer 0,05 M pH 7.6 .
- A continuación añadir 60 microl/100cc de tris buffer en 30 vols de H2O2 e incubar slides.

**SNA Párpado**

**S 100**





- Para el revelado de la peroxidasa se realizó la incubación en la DAB y el peróxido de hidrógeno.
- Los controles se realizaron omitiendo el antisuero primario.

Como decíamos, en este otro artículo estudiamos la inmunoreactividad para la proteína S100 en las diversas estructuras del párpado.

Recientemente, las proteínas S100 han recibido creciente atención por su relación con varias enfermedades humanas, incluyendo cardiopatías, enfermedades neurodegenerativas y cáncer, por lo que es importante su caracterización.

Podemos observar:

Células S100+ en el epitelio, y prolongaciones, que pudieran corresponder a células de Langerhans, que según diversos autores son positivas para la S100.

Las células del conectivo han sido negativas, pero fibras nerviosas inmunoreactivas están distribuidas en el conectivo, en nuestro caso, cerca de las glándulas y llegando a la vaina del folículo.

En la glándula de Meibomio no se observó inmunoreactividad para la proteína S100 en las células glandulares.

Haimoto et al y Khan et al, encuentran negativas para la S100 las células glandulares sebáceas en general, lo que concuerda con nuestros resultados tanto en la glándula de Meibomio como en las de Zeiss, también negativas.

Pero sí aparecen troncos nerviosos positivos en los tabiques conectivos de la glándula de Meibomio próximos a algunos pequeños vasos sanguíneos.

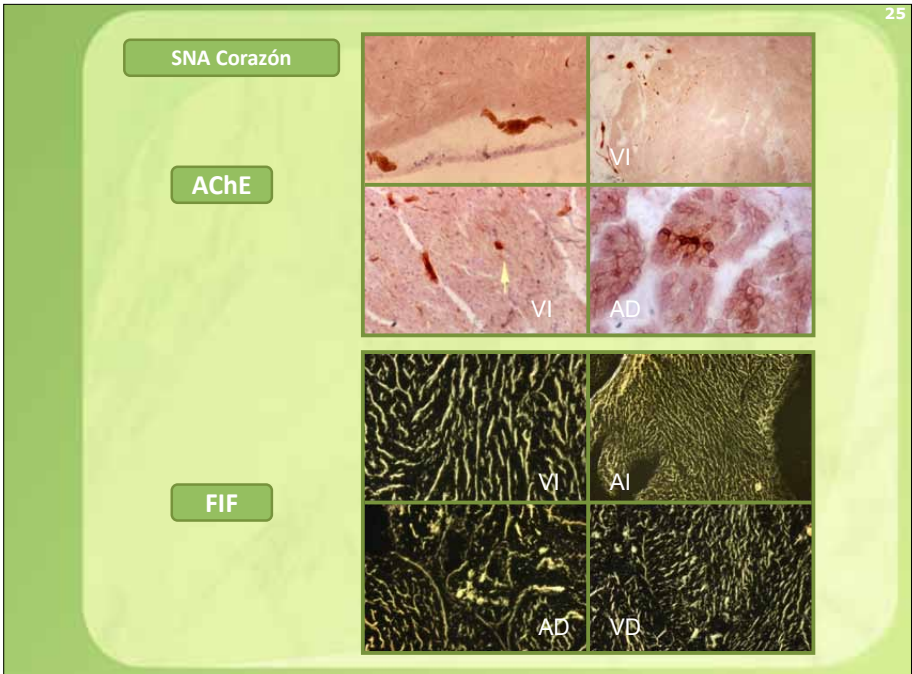
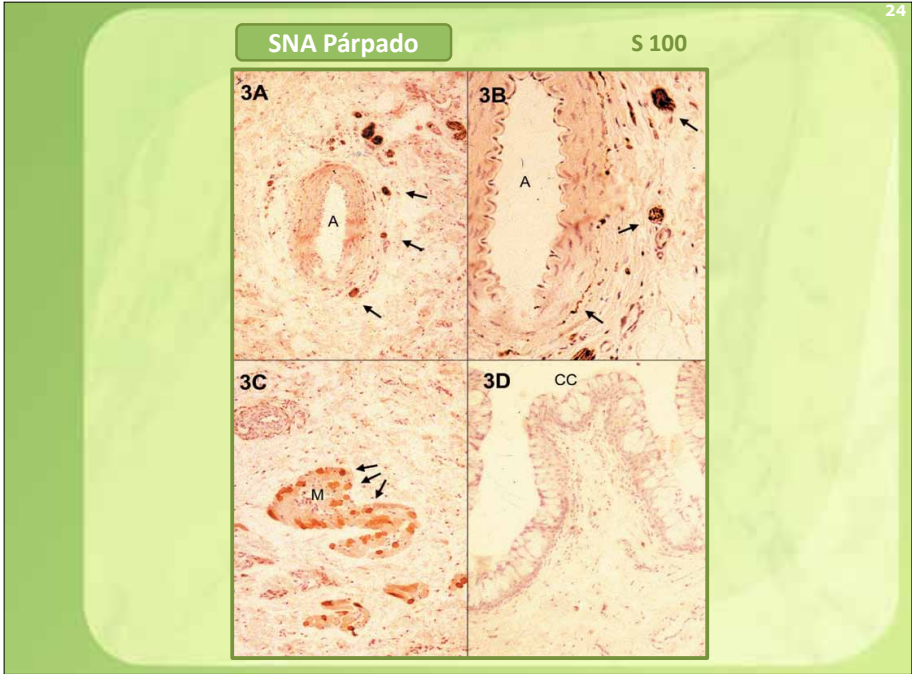
En el interior de la glándula lagrimal, nuestros resultados han sido similares a los encontrados en la glándula de Meibomio, en los septum conectivos, y alrededor de esta pequeña arteria. Y no hemos encontrado otras referencias al respecto.

Las glándulas sudoríparas en general, para Khan et al resultaron positivas para la S100 y Haimoto et al encontraron células parcialmente positivas en las glándulas sudoríparas ecrinas. Sin embargo, nosotros no hemos encontrado inmunoreactividad para la S100 en las glándulas sudoríparas apocrinas de Moll.

Respecto a los vasos, nuestros resultados coinciden con la mayoría de los autores, que encuentran una positividad escasa en el músculo liso de la pared y negativa en las células endoteliales.

Sin embargo, en estos vasos, los troncos nerviosos S 100+ llegan a la adventicia, y pequeñas fibras sinuosas en la capa muscular de la arteria.

Y de la misma forma que la inervación colinérgica, se aprecian fibras positivas en el músculo estriado, pero no en las células caliciformes de la mucosa conjuntiva, sin haber encontrado referencias al respecto.



Hemos estudiado asimismo la inervación de las paredes del corazón.

La clásica inervación colinérgica y adrenérgica es naturalmente la más abundante en el tejido muscular cardíaco.

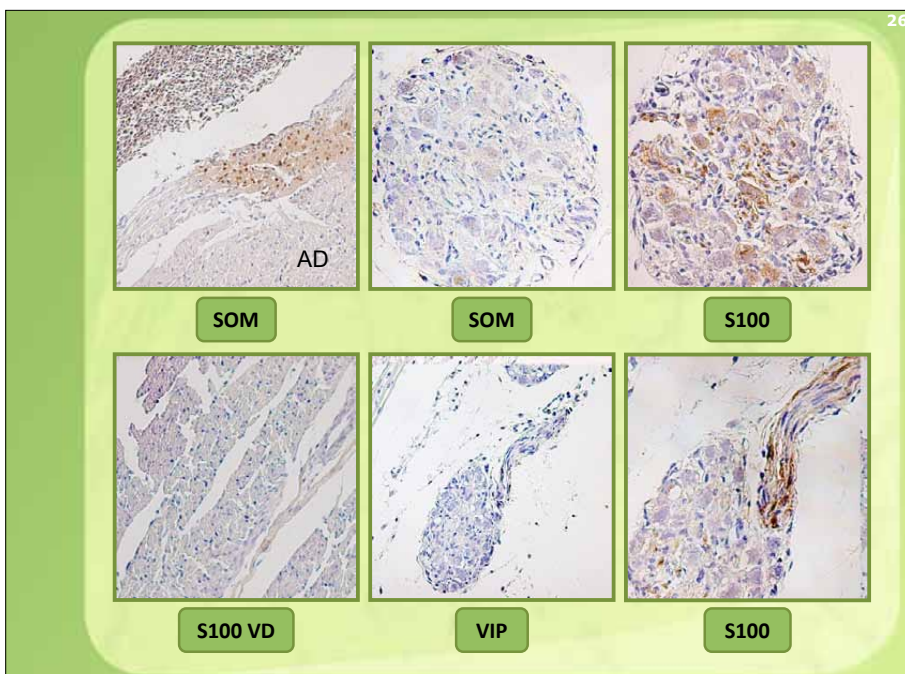
Hemos encontrado ganglios AChE+ en el pericardio, de los que parten troncos nerviosos que penetran hacia el miocardio, distribuyéndose entre los paquetes musculares de ventrículos y aurículas.

La inervación FIF es muy abundante y está amplia y uniformemente distribuida por todo el corazón, presentando algún cuerpo celular intrínseco.

Sin embargo, además de los clásicos mecanismos colinérgico y adrenérgico, existe una inervación complementaria que modula la inervación vegetativa. Los péptidos reguladores son capaces de afectar a la autonomía del corazón directamente o modulando los efectos vegetativos.

Mediante la técnica de la peroxidasa-antiperoxidasa (PAP) observamos la inmunoreactividad de los componentes nerviosos para el VIP, SOM y S-100.

Aparece inmunorreacción positiva para la somatostatina en el sistema de excitación cardíaco a nivel subendocárdico, que contrasta con la discreta



reacción del resto de las paredes cardíacas y de los ganglios nerviosos situados en el tejido conectivo.

La reacción VIP+ también es muy escasa en esos ganglios del tejido conectivo.

Sin embargo, La inmunoreactividad para la proteína S-100 en los ganglios y troncos nerviosos situados en el tejido conectivo próximo al corazón es mucho más intensa que la de la somatostatina o el VIP.

La proteína S100 es un marcador neuronal y de las células de Schwann.

Los neurotransmisores de grandes moléculas, entre ellos el péptido vasointestinal vasoactivo (VIP) y la Somatostatina (SOM), están considerados como neuromoduladores de los neurotransmisores clásicos de pequeñas moléculas, coexistiendo con ellos y siendo responsables, a veces de las respuestas no-adrenérgicas no-colinérgicas.

## REFERENCIAS

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Junquera C, Peg MT, Vera-Gil A. Intrinsic Innervation of the chicken lower digestive tract. *Neurochem Res* 1997; 22:1425-1435.

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Castiella T, Junquera C, Azanza MJ, Vera-Gil A. Histochemical, immunohistochemical, and electron microscopy study of the caudal portion of the chicken intestinal nerve of Remak. *Neurochem. Res* 1998; 23: 845-853.

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Pes N, Deus J, Pérez-Castejón MC, Vera-Gil A. Innervation of the chicken esophagus wall: localization and distribution of the acetylcholinesterase-positive nervous elements and ultrastructure. *Eur J Anat* 2000; 4: 103-109.

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Pérez-Castejón MC, Junquera C, Martínez-Ciriano MC, Pes N, Vera-Gil A. Acetylcholinesterase-positive and paraformaldehyde-induced-fluorescence-positive innervation in the upper eyelid of the sheep (*Ovis aries*). *Histol Histopath* 2001; 16: 487-496.

Aísa J, Lahoz M, Serrano P, Pérez-Castejón MC, Junquera C, Martínez-Ciriano MC, Pes N, Vera-Gil A. S-100 protein immunoreactivity in the upper eyelid of the sheep *Ovis aries*. *Journal of Molecular Histology (Formerly "The Histochemical Journal")* 2004; 35:457-462.

Aísa J, Lahoz, M, Serrano PJ, Parra P, Peg MT, Azanza MJ. Componente peptidérgico de los plexos intramurales de la porción terminal del tracto gastrointestinal de *Gallus gallus*. *Abs. VI Cong. S.E.B.C. Lleida* 1995.

Aísa J, Lahoz, M, Castiella T, Serrano PJ, Cisneros A, Junquera C. Caracterización morfológica de los distintos componentes del nervio de Remak de *Gallus gallus*. *Abs VI. Cong. S.E.B.C., Lleida* 1995.

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Cisneros A, Pérez-Castejón MC, Vera-Gil A. Componente AchE+ de la porción intrínseca del sistema nervioso entérico del recto y cloaca de *Gallus gallus*. *Abs. XVI Cong. Soc. Anat. Esp. Santiago de Compostela* 1995.

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Blasco J, Martínez MC, Pérez-Castejón MC, Vera-Gil A. Inervación catecolaminérgica tipo VIP y tipo SP de la pared del recto y cloaca de Gallus gallus. *Abs. XVI Cong. Soc. Anat. Esp. Santiago de Compostela* 1995.

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Pérez-Castejón MC, Junquera C, Martínez-Ciriano MC, Deus J, Vera-Gil A. Study of the S-100 immunoreactivity of the upper eyelid of the sheep (*Ovis aries*). *XVIII Cong. Soc. Anat. Esp. Valladolid* 1999. Publicación: *European Journal of Anatomy*, 1999, vol.3, supplement 1 pp. 41.

Aísa J, Lahoz M, Serrano PJ, Pes N, Deus J, Junquera C, Martínez-Ciriano MC, Pérez-Castejón MC, Vera-Gil A. Intrinsic Innervation of the avian stomach: catecholaminergic and peptidergic (VIP and SP) components. *XX Cong. Soc. Anat. Esp. Salamanca* 2001. Publicación: *European Journal of Anatomy*, 2001, vol.5, supplement 1 pp. 65.

Aísa J, Lahoz M, Serrano P, Pes N, Vera-Gil A, Pérez-Castejón MC. Estudio morfológico de la inervación AchE +, FIF +, peptidérgica y S-100 ir del corazón de Gallus gallus. *XII Congreso Nacional de Histología e Ingeniería Tisular. Valencia* 2003.

Alpaerts, K., Buckinx, R., Adriaensen, D., Van Nassauw, L. and Timmermans, J.-P. Identification and Putative Roles of Distinct Subtypes of Intestinal Dendritic Cells in Neuroimmune Communication: What can be Learned from Other Organ Systems?. *Anat Rec* 2015;298:903–916. doi: 10.1002/ar.23106

Baumgartem MHG, Lange W. Adrenergic innervation of the oesophagus in the cat (*Felix domestica*) and rhesus monkey (*Macacus rhesus*) *Z. Zellforsch* 1969; 95:529-545.

Bennet T, Cobb TLS. Studies of tube avian gizzard: the development of the gizzard and its innervations. *Z. Zellforsch* 1969; 98:599-620.

Bornstein JC, Costa M, Grider JR. Enteric motor and interneuronal circuits controlling motility. *Neurogastroenterol Motil* 2004 ;16 Suppl 1:34-38.

Burnstock G. Ultrastructural identification of neurotransmitters. *Scand J Gastroent* 1981; 16:1-9.

Chubb IW, Hodgson AJ, White GL. Acetylcholinesterase hydrolyzes substance P. *Neurosci* 1980; 5:2065-2072.

Coons AH, Leduc EH, Connolly HM. Studies on antibody production, I. A method for the histochemical demonstration of the specific antibody and its application to a study of the hyperimmune rabbit. *J Exp Med* 1955; 102:49-59.

Costa M, Buffa R, Furnes JB, Solcia P. Immunohistochemical localization of polypeptides in peripheral autonomic nerves using whole mount preparations. *Histochem* 1980; 65: 157-165.

El Badawi A, Schenk EA. Histochemical methods for separate consecutive and simultaneous demonstration of acetylcholinesterase and norepinephrine in cryostat sections. *J Histochem Cytochem* 15: 580-588.

Falk B, Owman C. A detailed methodological description of the fluorescence method for the cellular demonstration of biogenic amines. *Acta Univ Lund* 1965; 11:1-25.

Furness JB, Costa M. The use of glyoxylic acid for the fluorescence histochemical demonstration of peripheral stores of noradrenaline and s-hydroxytryptamine in whole mounts. 1975

Khan HJ, Marks A, Thom H, Baupal R. Role of antibody to S100 protein in diagnostic pathology. *Am J Clin Pathol* 1983; 79: 341-347.

Lahoz M, Aísa J, Serrano PJ, Pes N, Deus J, Martínez-Ciriano MC, Junquera C, Pérez-Castejón MC, Vera-Gil A. Study of the intrinsic AchE-positive nervous plexuses of the avian stomach in sections and in whole mount preparations. *XX Cong. Soc. Anat. Esp. Salamanca* 2001. Publicación: *European Journal of Anatomy*, 2001, vol.5, supplement 1 pp. 45.

Tomita R. Regulation of vasoactive intestinal peptide and substance P in the human pyloric sphincter. *Hepatogastroenterology* 2009; 56:1403-1406.

Tomita R. Regulation of the peptidergic nerves (substance P and vasoactive intestinal peptide) in the colon of women patients with slow transit constipation: an in vitro study. *Hepatogastroenterology* 2008;55:500-507.

Tomita R, Tanjoh K, Fujisaki S, Ikeda T, Fukuzawa M. Regulation of the enteric nervous system in the colon of patients with slow transit constipation. *Hepatogastroenterology* 2002;49:1540-1544.

Young HM. The vesicle content of catecholamine containing axons in the rectum of the domestic fowl: effect of permanganate and chromatin fixations. *J Autonom Nerv System* 1989; 26:17-25.

Young HM. The ultrastructure of the intestinal nerve of Remak of the domestic fowl. *Cell Tissue Res* 1990; 260:601-616.

SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 22 DE OCTUBRE DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

MI CONVICENCIA CON  
DON GREGORIO MARAÑÓN

POR EL  
ILMO. SR. D. SANTIAGO MARTÍNEZ FORNÉS  
ACADÉMICO CORRESPONDIENTE DE LAS REALES  
ACADEMIAS DE MEDICINA DE ZARAGOZA,  
PRINCIPADO DE ASTURIAS E ISLAS BALEARES.  
PROFESOR HONORARIO





## **BIENVENIDA DR. MARTINEZ FORNÉS POR EL DR. CARAPETO**

Excmo. Sr. Presidente de la RAM de Zaragoza.

Excmos. e Ilmos. Srs. Académicos

Sras y Srs.

Tengo hoy el placer de dar la bienvenida a esta casa al Prof. D. Santiago Martínez Fornés, con el que me une una entrañable y larga amistad, iniciada hace ya muchos años entre él y mi padre y que yo he tenido la inmensa suerte de retomar no hace mucho tiempo, desde esta Junta Directiva a la que me honro en pertenecer y la que agradezco muy sinceramente, que me permita ser esta tarde la persona que salude al Prof. Martínez Fornés en nombre de esta Real Academia de Medicina.

Mi intervención, será necesariamente muy breve, ya que el tema que expone el Dr. Martínez Fornés: “ Mi convivencia con D. Gregorio Marañón”, con toda seguridad muy interesante y con aspectos totalmente desconocidos por este auditorio, requiere de todo el tiempo disponible para esta sesión, pero naturalmente no puede faltar una sucinta semblanza del conferenciante, que nos ayude a introducirnos en el ambiente y facetas múltiples de la vida de este amigo y compañero, que como veremos goza de un muy alto prestigio y consideración social.

El Dr. Martínez Fornés, nació en Pozondón, provincia de Teruel, siendo el primer universitario en la historia de su pueblo y de su familia. Años después, sus paisanos le dedicaron la calle principal del pueblo, en acto solemne y en nombre del Ministro de Justicia.

Sus estudios de Enseñanza Media los realiza en el prestigioso Instituto Cardenal Cisneros, figurando entre D. Jacinto Benavente y Julián Marías, en una placa conmemorativa en Homenaje a los Antiguos Alumnos la primavera pasada. En ella figuran además, personajes de nuestra Historia Nacional de la categoría de: Menéndez Pidal, Miguel Primo de Rivera, Antonio Machado, Manuel Azaña, Gómez de la Serna, Clara Campoamor, María Moliner, Salvador de Madariaga, Pedro Rocamora, Fernando Fernán Gómez, Camilo José Cela y un largo etc, hasta completar una lista de 100 personalidades de las ciencias y las letras españolas.

La carrera de Medicina y Cirugía la cursó en la Universidad de Madrid, graduándose con uno de los expedientes más brillantes, concediéndosele el Accésit al Premio Nacional Fin de Carrera.

El Dr. Martínez Fornés ha desarrollado una encomiable labor científico-informativa cuyo resumen es: haber publicado 190 trabajos, algunos de ellos traducidos al inglés, francés, alemán, árabe y japonés. Es autor asiduo de las “Inefables Fornerías”, traducidas al francés y el alemán que nos ayudan a formar la personalidad. Haber dictado 448 Conferencias en distintas y prestigiosas tribunas.

Fue Presidente de la Asociación de especialidades Médicas durante 8 años. Es Profesor Honorario de la Universidad Internacional del Mediterráneo. Es colaborador Cultural de TVE. Esta en posesión de la Cruz de San Jorge. Fue nombrado Aragonés Relevante y Preclaro por la Federación Nacional de Casas Regionales. Es colegiado de Honor con Insignia de Oro del Colegio de Médicos de Madrid que se concede anualmente entre los 40.000 afiliados. Es Académico Correspondiente de las Reales Academias de Medicina de Zaragoza, Principado de Asturias, e Islas Baleares.

El Dr. Martínez Fornés viene hoy a ilustrarnos sobre una de las personalidades más brillantes del siglo XX, D. Gregorio Marañón. Hombre complejo y difícil de definir con una polivalencia fuera de lo común: como médico, científico, historiador, escritor, pensador liberal, sobre el que muchos han opinado probablemente de forma certera, pero casi con seguridad sin poder adentrarse en la “naturaleza humana del hombre”, como estoy seguro lo puede hacer D. Santiago Martínez Fornés, persona que tuvo la inmensa suerte de estar muy próximo a él, y por lo tanto, conocedor de situaciones y circunstancias que tuvieron en su momento una gran trascendencia histórica para España.

Del Dr. Martínez Fornés decía el Insigne Profesor Marañón:” Incomparable colaborador y amigo, el Dr. Martínez Fornés brilla por su inteligencia, entusiasmo y eficacia”, palabras que demuestran el afecto y reconocimiento sincero del Maestro para con el Discípulo.

También D. Pedro Rocamora en las páginas del diario ABC, se refería a nuestro invitado de hoy diciendo: “...Porque Martínez Fornés es no sólo un médico ilustre, un pensador insigne y un gran intelectual, sino una mentalidad fuera de serie. Un hombre en fin, que para calificarle bien habría que decir de él, que es un lujo de España”.

No cabe duda pues, de la valía personal de nuestro conferenciante de hoy, al que le adornan además las características del “auténtico caballero” en todos sus matices y situaciones. De esta personalidad forjada en el pensamiento, el trabajo y el estudio, nos da un ejemplo más, la larga convivencia con Helena su esposa entrañable, que le acompaña incansablemente a lo largo de su fructífera vida.

A los dos, mi sincera y profunda amistad con el agradecimiento y el placer de poder compartir con ellos esta jornada. Pero además quiero resaltar, que hoy y a esta hora, se celebra en la Real Academia Nacional de Medicina el aniversario del fallecimiento de D. Santiago Ramón y Cajal, y que entre otras ilustres personalidades, el Dr. Martínez Fornés, estaba invitado a participar en la lectura de un capítulo del libro: "Cajal: recuerdos de mi vida".

Por todo ello, le reitero el agradecimiento de esta Corporación y el mío propio y le felicito de antemano por la que con seguridad será una muy interesante y esclarecedora conferencia sobre el que fue un Gran Maestro de la Medicina y cultivó con igual acierto y brillantez otros variados aspectos de la vida, D. Gregorio Marañón.

Muchas gracias.



## **“MI CONVIVENCIA CON DON GREGORIO MARAÑÓN”**

Excmo. Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina de Zaragoza.

Ilmos. Sres. Académicos y Autoridades.

Distinguidos Colegas y Amigos.

Ningún tema podría serme más grato que pronunciar el Discurso sobre MI CONVIVENCIA CON DON GREGORIO MARAÑÓN.

Porque tuve el privilegio de escuchar tantas veces al Maestro su devoción por este Templo de la Cultura y por los Colegas Aragoneses.

Especialmente, el Académico JOAQUIN AZNAR –arquetipo del espíritu aragonés–, cuyo centenario acaba de honrar nuestra Real Academia a través del Prof. SOLSONA, querido y admirado también por el Maestro.

Y porque aquí está representando lo mejor de mi Pueblo, mi Tierra, mis Gentes.

Así que GRACIAS, MIL GRACIAS, que es la palabra más grácil, grata, graciosa y agradecida de nuestro idioma.

Gratitud muy especial al Excmo. Sr. Don RICARDO HORNO que, siendo Presidente, me concedió el gran honor de nombrarme ACADÉMICO CORRESPONDIENTE en Diciembre de 1975. La primera de mis tres Reales Academias del Instituto de España.

Y también a los Ilmos. Sres. Vicepresidente y Secretario General que han sido mis generosos padrinos en esta segunda y solemne ocasión.

### **I**

Cuando estudiaba tercer curso de Medicina supe que Don GREGORIO había regresado del exilio y recuperado su Cátedra de Endocrinología y Nutrición y la Dirección del Instituto de Patología Médica.

Y que a su Consulta en la Policlínica podían asistir, sin trámite burocrático alguno, los Médicos y Estudiantes de Medicina que lo deseasen.

Al día siguiente allí estaba yo, sentado en una pequeña grada situada a la izquierda del MAESTRO.

Cada Médico Interno leía en voz fuerte la historia clínica del paciente y exponía su juicio diagnóstico, basado tan solo en el diálogo sin prisas con el enfermo y los datos de la exploración clínica, sin más ayuda que sus sentidos, el fonendoscopio, el aparato de la tensión arterial, un termómetro y la báscula para pesar y tallar al paciente.

El MAESTRO comentaba cada una de estas primorosas historias clínicas y ratificaba, añadía o rectificaba el juicio diagnóstico del discípulo.

Una vez completado el estudio del paciente volvíamos a ver al enfermo y Don GREGORIO comentaba el diagnóstico del Médico Interno, su diagnóstico y el definitivo.

Si el paciente fallecía en el Hospital, le practicaba la autopsia el Prof. ARTETA. Y los Sábados por la mañana el Maestro comentaba como fuente suprema de aprendizaje las coincidencias. Y posibles discrepancias, por no valorar con perspicacia algún pequeño detalle que figuraba en la historia clínica o que indebidamente se había omitido.

Con lo cual fuimos pioneros en estudiar sistemáticamente el posible error médico. Al cual el Prof. CARAPETO ha dedicado recientemente en este Templo de la Cultura una Conferencia publicada después, de antología.

MARAÑÓN pensaba –como el Académico CARAPETO– “que hay algo positivo en equivocarse. La oportunidad de rectificar”.

Don GREGORIO no conocía los resultados de la autopsia hasta que el Prof. ARTETA los leía en la misma Sesión Clínica.

Esta elegante naturalidad de Don GREGORIO nos encandilaba a todos sus discípulos. Porque el Maestro convierte a los alumnos en discípulos.

Naturalidad y sencillez que le permitían consultar a los colaboradores presentes los valores normales de un dato de laboratorio, en qué consistía un signo poco habitual o un síndrome o enfermedad muy poco frecuente, que el MAESTRO no recordaba con precisión.

Mi condición de estudiante estudioso favoreció dos intervenciones mías en una semana, llenas de dudas y timidez.

Tras la segunda intervención, me rogó el MAESTRO: “Por favor, me gustaría hablar con usted al final de la consulta”.

¡Cielos! ¿Se habría molestado Don GREGORIO con mi pedantería de estudiante?

Notaba que el pájaro rojo que aletea en la jaula de mis costillas, loco de ansiedad, se escapaba por la boca pidiendo perdón. Y la sesión parecía no tener fin...

Don GREGORIO –con la sonrisa en los ojos y un quiebro de luz en los labios– colocó su mano izquierda en mi hombro derecho y yo –pobre de mí hasta hacía unos momentos– me sentí armado caballero.

Cincuenta años después, en la Inauguración de la EXPOSICIÓN GREGORIO MARAÑÓN en la Biblioteca Nacional –que dirige mi Ilustre amiga ANA SANTOS ARAMBURO– nos refería un Ministro socialista en presencia del Rey: “Todavía me preguntan y se preguntan no pocos socialistas, si MARAÑÓN era de los nuestros o de los otros”. Les contesto: “Eso no importa. Lo importante es que los mejores socialistas somos de los suyos”.

Mi segunda visita a la EXPOSICIÓN fue acompañando al Académico y Profesor LUIS MIGUEL TOBAJAS.

## II

Don GREGORIO me ofreció “incorporarme a su equipo, siempre y cuando las prácticas de la Facultad se lo permitan.”

Allí aprendí de Don GREGORIO –entre otros muchos saberes– a buscar con el mismo entusiasmo la enfermedad en el hombre y al hombre en la enfermedad. Ya que no hay enfermedades sino enfermos.

Que no hay mejor ojo clínico que un buen oído.

Que “quien no duda nunca se convierte en un peligro social”.

Años después escucharía a JORGE LUIS BORGES, cogiéndome las manos: “la duda, el otro nombre de la inteligencia.”

Y “la diligencia, que es una virtud, se convierte en prisa, que es un defecto.”

Algún paciente expresaba en la Consulta su gratitud agrídulce porque su ingreso en otro gran Centro Clínico “le había curado la enfermedad... pero no le habían devuelto la salud”.

Don GREGORIO se sentía muy cómodo con mi presencia, siempre dispuesto para resolver las mil y una dificultades de cada día: el número desbordante de pacientes, que no podíamos atender; la visita diaria de médicos con cartas de presentación-recomendación, seleccionar los temas a tratar en las Sesiones Clínicas, roces con el Decano de la Facultad que era un “fundamentalista de la Política y de la Religión”, –hoy le consideraríamos un auténtico Talibán–; visitas de personajes que deseaban saludar a MARAÑÓN al acabar la Consulta.

III

La asistencia de Don TEÓFILO HERNANDO a las sesiones de Policlínica era una gozada. Por sus comentarios a las historias clínicas llenos de agudeza, perspicacia y cultura apabullante. Y por sus diálogos recoletos con el MAESTRO, en la Biblioteca, al terminar la Consulta.

Cogiéndome del brazo, unas veces el MAESTRO MARAÑÓN y otras veces el MAESTRO HERNANDO, me incorporaron como testigo casi mudo de sus confidencias. Sobre recuerdos de acontecimientos que habían protagonizado y que cambiaron –en gran parte– los derroteros históricos de la España treintañera.

La primera visita que recuerdo fue la de EUGENIO D´ORS, en la pequeña Biblioteca del Instituto, mientras el Maestro orientaba a una encantadora Periodista, que deseaba investigar sobre algunos aspectos concretos del CONDE-DUQUE DE OLIVARES.

Acompañé a Don EUGENIO, quien dirigió a la dama que dialogaba con Don GREGORIO el más bello piropo que he escuchado en mi vida “Gracias, Señorita, por existir”.

Empezaba D´ORS a narrarnos alguna leyenda catalana, cuando era interrumpido delicadamente por una especie de Edecán que le acompañaba, con la aclaración de “que ya nos la había relatado anteriormente”. “No importa... porque yo cada vez cuento las cosas de un modo distinto”.

Acompañé a Don GREGORIO para visitar a ORTEGA y GASSET, recién operado por el Prof. VARA LÓPEZ. Nos regaló con un diálogo que jamás olvidaré: “Somos lo que hacemos y lo que nos sucede” “Créame –MARAÑÓN– el problema vasco y –en menor medida– el problema catalán son dos problemas que no tienen solución... tendremos que aprender a convivir con ellos. Quizás, cuando se cree la Comunidad de Naciones Europeas...” Este encuentro ocurría en 1953.

Otra visita imborrable fue la de Don PEDRO LAIN, Rector entonces de la Universidad Complutense.

Corrían tiempos aciagos como los que estamos viviendo hoy en España. (Nadie pronuncia el nombre de España con “aes” tan sonoras y abiertas como nosotros los aragoneses).

Quería nuestro insigne paisano comentar con el MAESTRO la delicada situación. Al despedirse nos mostró las tarjetas de visita que acababa de encargar:

*PEDRO LAÍN ENTRALGO  
NO PURITANO.*



Nos pedía a sus íntimos que le tuteásemos a pesar de la diferencia generacional. Curiosamente accedíamos a su ruego de tutearle pero llamándole siempre Don PEDRO.

#### IV

Don GREGORIO que -también- se había hecho imprimir, al final de la Segunda Guerra Europea, unas tarjetas de visita tan originales como evocadoras

*GREGORIO MARAÑÓN*

*Europeo*

A pesar de sus acendrados sentimientos monárquicos, la Condesa de PARDO BAZAN invitaba a Don GREGORIO MARAÑÓN -ya destacado intelectual republicano- a comer en su casa con cierta regularidad.

Con su hija BLANCA y su yerno el Teniente General JOSE CAVALCANTI, Jefe de la Casa Militar del Rey y condecorado con la Cruz Laureada de San Fernando. Como saben, la máxima condecoración militar en España.

Cada vez que surgía el tema republicano, el General -de origen italiano y muy rico en gestos- se acaloraba más de lo aconsejable. Y la condesa ponía orden : "PEPE, no discutas con el Doctor... que tú sólo eres un héroe".

BLANCA -la Marquesa Viuda de Cavalcanti- le disculpaba siempre, aclarándome muchos años después: "Era un caballero de firmes convicciones".

Del mismo modo que los aragoneses no somos tercos sino tenaces.

Doña EMILIA PARDO BAZAN estaba dotada de un ingenio especial para construir frases lapidarias.

En ocasión solemne amonestó a RAMÓN DEL VALLE-INCLÁN: "Joven, para ser gallego y buen escritor hay que llevar faldas, como ROSALIA, Servidora y el Padre FEIJOO."

Otro día les contaré cómo arrebataron el Pazo de Meirás a la familia y cómo una inmediata y lúcida respuesta de BLANCA -la Marquesa Viuda de Cavalcanti-, al comunicarle el Gobernador Civil la incautación, salvó parte de su Patrimonio. Ninguna de las versiones -numerosas y variadas- que se han publicado es cierta.

Llega el 12 de Abril de 1931 y estalla -literalmente- la República.

Para evitar una guerra civil, ALFONSO XIII decidió exiliarse tras consultar con los Capitanes Generales.

La única condición impuesta por el Rey fue que la entrega de poderes tuviese lugar en casa de Don GREGORIO MARAÑÓN y en presencia del Doctor. Cuanto ocurrió allí es un secreto jamás revelado por nadie hasta ahora.

Un secreto que me confiaron Don GREGORIO y Don TEOFILO, con el ruego de guardarlo mientras ellos vivieran.

Allí se citaron Don NICETO ALCALA ZAMORA –en representación del nuevo orden–, el Conde de ROMANONES –en nombre del Rey– y Don GREGORIO MARAÑÓN, como moderador, respetado y querido por todos.

ALCALA ZAMORA insistía una y otra vez en “la marcha del Rey, antes de amanecer y saliendo por alguna de las puertas de servicio de Palacio.”

Como el Conde de ROMANONES le recriminase su actitud, impropia de quien había sido Ministro de la Corona, guardó un silencio que a los tres les pareció interminable... para aclarar Don NICETO:

“Nadie queremos –especialmente MARAÑÓN y yo– que la República se proclame con la cabeza del Rey en una pica”.

“Contamos con la lealtad de SANJURJO”, puntualizó ROMANONES.

Corría entre los “enterados” la visita de SANJURJO –Director General de la Guardia Civil– al Rey.

“Majestad, puede contar con mi lealtad inquebrantable... pero yo no cuento con la lealtad de la Guardia Civil”.

Don NICETO guardó otro silencio interminable para confesar:

“Me había prometido guardar el secreto exigido por el General SANJURGO, quien me acaba de visitar para ofrecernos a MARAÑÓN y a mí su apoyo incondicional a la República... y el de la Guardia Civil”.

Por intervención de MARAÑÓN se acordó “apresurar la marcha del Rey, de noche y lo más discretamente posible”.

Se nombró –¿se nombraron ellos?– aprisa y corriendo un Comité Revolucionario constituido por Don NICETO ALCALA ZAMORA, Don JULIAN BESTEIRO y el Prof. SÁNCHEZ ROMAN.

Su primera gestión fue visitar a Don GREGORIO MARAÑÓN para ofrecerle la Presidencia provisional de la República hasta que las Cortes Constituyentes nombrasen al primer Presidente de la República.

Don GREGORIO –“en la situación más difícil de mi vida”– declinó elegantemente la oferta.

“No soy yo el hombre decisivo que necesita España en estos momentos.”

Visitaron entonces a Don TEÓFILO HERNANDO, con tan honroso ofrecimiento, sin ocultarle su oferta anterior a MARAÑÓN.

“Un hombre lleno de dudas –como yo– no es el hombre adecuado”, les confesó HERNANDO.

Dirigiéndose directamente a Don JULIÁN BESTEIRO –una de las tres personalidades políticas españolas más fascinantes del siglo pasado– sugirió Don TEÓFILO HERNANDO:

“Cualquiera de ustedes tres –querido Don JULIÁN BESTEIRO–, sería un gran Presidente...”.

Aprovechando el desconcierto y la timidez de BESTEIRO, Don NICETO ALCALA ZAMORA se puso en pie:

“Tiene razón, Don TEÓFILO. Cualquiera de nosotros tres sería un buen Presidente...Yo mismo ¿No le parece, Don TEÓFILO...?”

Ante la confusión de HERNANDO se dirigió al no menos confuso BESTEIRO. Ninguno de los tres se atrevió a comunicarle sus reparos.

“A usted, Prof. SÁNCHEZ, no necesito ya pedirle su voto. Don TEÓFILO, Don JULIÁN y yo somos mayoría absoluta y hemos decidido que el nuevo Presidente provisional de la República sea yo”.

Así se autoproclamó Presidente Don NICETO ALCALA ZAMORA, en el domicilio de Don TEÓFILO.

## V

MARAÑÓN se encontraba en Portugal –llamado para celebrar una Consulta de Médicos, entonces muy frecuentes– cuando se produce la sublevación militar: 17 de Julio 1936.

Regresa apresuradamente a Madrid, no para defender la República –que ya no sentía como propia– sino para defender el Orden y la Libertad.

Hay un estrecho paralelismo de sentimientos entre su llegada y la del Poeta León Felipe, poco después, desde Panamá.

Los Intelectuales Progresistas acuden a recibir a LEÓN FELIPE “Gracias –MAESTRO– por venir a luchar por la Libertad contra los Fascistas”. Les contesta el Poeta recién llegado: “Yo no he venido a hacer la guerra... sino a padecerla.”

Como tantos otros Intelectuales –MARAÑÓN, ORTEGA y GASSET, HERNANDO y varios centenares más–, el insigne Poeta se verá obligado también a emprender la ruta amarga del exilio. A México, en 1938.

MARAÑÓN llegó a ser detenido dos veces. Sometido a presiones indignas por no firmar los manifiestos que le presentaban, peligrando gravemente su propia vida, decide exiliarse a Francia en Diciembre del 36.

Llegó desolado a París. Allí le esperaba su gran amigo JEAN COCTEAU.

Cuando el MAESTRO le refiere su tristeza por los crímenes y la quema de Iglesias con todo su contenido artístico irremplazable. COCTEAU intenta consolar al Patrono del Museo del Prado y futuro Académico de Bellas Artes: “Lo que yo más admiro de ustedes los españoles es que queman lo que aman. Nosotros los franceses lo vendemos”.

A las DOS ESPAÑAS de MACHADO, MARAÑÓN, UNAMUNO y HERNANDO añadirán la TERCERA ESPAÑA de “los perseguidos por los hunos y los hotros.”

El Maestro hacía suyas las palabras de SALVADOR DE MADARIAGA: “Se me ha reprochado haber permanecido neutral en nuestra Guerra Civil. No es cierto. Siempre he estado en contra de unos y otros”.

## VI

Don GREGORIO tenía un delicioso sentido del humor con los Colaboradores que sabía cuánto le queríamos y respetábamos.

Escuchó sonriente cuando le comenté cómo los pacientes de fuera de Madrid decían: “Voy a ver a don GREGORIO MARAÑÓN”. O “voy a que me vea JIMÉNEZ DIAZ”.

Nos enseñó que la Medicina se estudia como Ciencia y se ejerce como Arte. Y Oficio, añade el Prof. TOBAJAS.

El Maestro pronunció ayer una Conferencia en el Ateneo de Madrid.

El público llenaba el anfiteatro y numerosas personas tuvieron que permanecer de pie.

Entre la multitud surgió una dama que, como diría GARCÍA LORCA “traía toda la majestad de un río puesto de pie”. Besó efusivamente a Don GREGORIO –que se sintió un tanto turbado porque entonces no era usual besar al Conferenciante– y le envolvió con su sonrisa: “Le felicito MAESTRO. Ha estado genial. Se crece de Conferencia en Conferencia.” La interrumpió MARAÑÓN: “Siento mucho que haya tenido que permanecer de pie. Habrá observado que, en atención a usted, me he saltado varios folios.” Sin darle pausa para respirar, contestó la dama glamurosa: “De pie –Mi querido MAESTRO– es como escucho yo el Evangelio”.

Estas ráfagas admirables de cortesía e ingenio apenas duraron un suspiro.

¡Qué tiempos aquellos...!

Estaba claro. YO TAMBIÉN SERIA CONFERENCIANTE.

## VII

Tiempo después...

SERRANO SUÑER –insigne Abogado del Estado destinado en Zaragoza y Diputado por esta provincia que fue– con narración lenta y prolija –como suelen hablar las personas muy mayores– me relataba que, al concluir la Segunda Guerra Mundial, con la derrota del nazismo, FRANCO sintió gravemente amenazada su situación política y personal. Y decidió, con su cuñado ofrecer una cabeza de turco a los aliados, como responsable de la política germánica del Régimen.

Por supuesto, la cabeza de SERRANO SUÑER, quien advirtió a FRANCO que no sería creíble por los vencedores si no formaba un nuevo Gobierno presidido por MARAÑÓN y en el que figurasen SALVADOR DE MADARIAGA y ORTEGA Y GASSET.

Encargó –una vez más– tan delicada misión a su cuñado y persona de confianza.

Pero de las gestiones de SERRANO SUÑER y del eco que encontraron... les hablaré otro día.

Y de la sorprendente e inédita relación del MAESTRO con el GENERAL FRANCO –especialmente durante la Revolución de Asturias– y el PAPA JUAN XXIII.

## VIII. ESTABA ESCRITO...

Don GREGORIO rehusaba radicalmente perder su tiempo libre –que, como “traperero del tiempo”, no tenía– acudiendo a actos sociales. Y miedo a sentar un precedente.

Unos meses antes me había comentado el MAESTRO “Curiosamente en tantos años trabajando juntos –e hizo ademán como si preguntase cuántos– usted nunca me ha pedido ningún favor, ni recomendación alguna, aunque conozco sus problemas.”

Me llenó de felicidad esta confidencia y le contesté abrumado “¿Le parece poco favor –Don GREGORIO– llevar cinco años aprendiendo a su lado... y no sólo Medicina?”.

Así surgió el único problema grave –muy grave para mí– durante el noviazgo.

Invitarle a nuestra Boda. Podría ser muy violento para el MAESTRO negarme su asistencia. Por otro lado, casarnos sin comunicárselo, nos parecía a HELENA y a mí, una grave descortesía, ya que nos había presentado Don GREGORIO.

Tuve que esperar varios días hasta encontrarme a solas con Don GREGORIO en el sanctasanctórum de la Biblioteca... y llenarme de valor para explicarle: “Don GREGORIO, HELENA y yo hemos decidido contraer matrimonio dentro de un mes. Se lo comunicamos llenos de gratitud y cariño. Pero no le invitamos a la Boda para respetar su costumbre de no asistir nunca a actos sociales.”

El MAESTRO –apoyando una vez más su mano izquierda en mi hombro derecho y con la sonrisa más luminosa, irreplicable– me tranquilizó: “Pero, al menos, me dirá el día, la hora y el sitio.” Tres o cuatro días después, recibimos una enorme concha de plata que enriquece y decora nuestro hogar.

Al día siguiente, al acabar la Consulta de Policlínica, le entregué con nuestra gratitud una invitación para la Boda.

Don GREGORIO me confirmó “su asistencia y que sería uno de los testigos”. Al verme tan turbado añadió: “Además seré Padrino de su primer hijo... que será una niña”.

Y aquí la tienen con nosotros el día de su Bautizo.

NUEVE AÑOS DESPUÉS: el día de la Inauguración del Monumento de Pablo Serrano al Maestro, en la Ciudad Universitaria, junto a la Facultad de Medicina.

La pequeña Helena, con el uniforme del Colegio, ocupando el lugar exacto que le habían indicado, Don TEOFILO –como Presidente de la INSTITUCION GREGORIO MARAÑÓN– y el Prof. BOTELLA LLUSIA, Rector de la Universidad Complutense.

## IX

Como no pocos Colegas, el MAESTRO se acostó a morir.

Durante la enfermedad establecimos unos turnos de permanencia entre los Colaboradores más cercanos a Don GREGORIO.

En uno de mis desplazamientos, el taxista –con los ojos aguados– me advirtió: “Perdone que circule tan lento, con la radio apagada y la voz baja... pero es que en la dirección que usted me ha dado Don GREGORIO se está muriendo”.

No recuerdo entierro tan concurrido, silencioso y respetuoso como el de Don GREGORIO.

Pocos días después, Doña LOLA me testimonió su cariño y el de la familia enviándome con RAMON –el mozo de comedor y hombre de confianza– la última chaqueta que el MAESTRO había encargado a su sastre habitual, CARLOS PARRILLA.

Me pareció claro el mensaje. Nadie conocía a Don GREGORIO como Doña LOLA. Y pienso que ella pensaría: “Si el cerebro de GREGORIO es irreplicable, también lo es su corazón. Y esta prenda había cobijado los latidos de su corazón en las últimas semanas”.

De la obra copiosísima del MAESTRO, –sólo El, CANOVAS DEL CASTILLO y MENÉNDEZ PELAYO han pertenecido a cinco Reales Academias del Instituto de España–. Su mejor legado –sin duda– fue Don GREGORIO. Don GREGORIO como PERSONA, PERSONALIDAD Y PERSONAJE.

En vano buscaba Diógenes “un hombre”, con un farol en la mano. Había una distancia entre ellos de dos mil trescientos años luz. Digo años-luz porque así medimos la distancia de las estrellas.





SOLEMNE SESIÓN CONJUNTA DE APERTURA  
DEL CURSO DE LAS ACADEMIAS DE ARAGÓN  
REAL ACADEMIA DE NOBLES Y BELLAS ARTES DE SAN LUIS  
REAL ACADEMIA DE MEDICINA  
REAL ACADEMIA DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS, QUÍMICAS Y NATURALES  
ACADEMIA ARAGONESA DE JURISPRUDENCIA Y LEGISLACIÓN  
ACADEMIA DE FARMACIA “REINO DE ARAGÓN”

DÍA 29 DE OCTUBRE DE 2015

PRESIDE EL

EXCMO. SR. D. MANUEL LÓPEZ PÉREZ

LOS ANTIOXIDANTES EN LA VIDA,  
EN LA FARMACIA Y EN  
LA TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS

POR EL

ILMO. SR. D. PEDRO RONCALÉS RABINAL  
ACADÉMICO NUMERARIO  
DE LA ACADEMIA DE FARMACIA “REINO DE ARAGÓN”

\*Publicado en tomo aparte.



SESIÓN CIENTÍFICA  
DEL DÍA 5 DE NOVIEMBRE DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

ESTUDIO GENÉTICO-MOLECULAR DE LAS  
ENFERMEDADES MITOCONDRIALES HUMANAS

POR EL  
ILMO. SR. D. JULIO MONTOYA VILLARROYA  
ACADÉMICO DE NÚMERO

DE LA ACADEMIA DE FARMACIA "REINO DE ARAGÓN".  
CATEDRÁTICO DE BIOQUÍMICA Y BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA  
FACULTAD DE VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

PRESENTADO POR LA  
ILMA. SRA. D<sup>a</sup>. CARIDAD SÁNCHEZ ACEDO  
ACADÉMICA DE NÚMERO



Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina de Zaragoza,  
Dignísimas Autoridades

Ilustrísimos Señores Académicos  
Señoras y Señores

Una vez más la Real Academia de Medicina de Zaragoza, nos honra al designarnos su representante en este acto. Sean pues, mis primeras palabras para agradecer la deferencia del Presidente y de la Junta de Gobierno de esta Academia, por la confianza depositada en mi persona y por el privilegio que supone presentar ante esta digna corporación al conferenciante, gran científico con reconocimiento internacional.

Conocemos al Doctor Montoya desde el año 1984 en que se incorporó a esta Universidad como joven promesa y le admiramos tanto en lo profesional como en lo humano honrándonos con su amistad. Sin embargo, no es tarea fácil enumerar la ingente cantidad de méritos que en él concurren, por lo cual trataré de hacer una breve exposición de su larga y dilatada actividad científica ya que el entusiasmo por la investigación ha sido y es el eje de su vida.

El profesor Julio Montoya, con raíces valencianas y aragonesas, nació en Sigüenza el año 1949 donde fue educado con el ejemplo del trabajo, el esfuerzo y la superación, en el seno de una familia universitaria. Tanto su padre como su abuelo paterno ejercieron la profesión de médico y su madre y su abuelo materno la de farmacéutico, lo cual según parece ha dejado unas profundas raíces en su trayectoria profesional.

En 1959 el doctor Montoya se traslada a Zaragoza, donde residían sus abuelos maternos y cursa con gran brillantez el bachillerato en el Colegio San Agustín. En 1965 inicia los estudios universitarios en la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense, siendo un universitario vocacional con una sólida formación, según lo ratifica su expediente académico al obtener en 1973 el premio Folch de Licenciatura y en 1974 el grado en Farmacia con la calificación de Premio Extraordinario

Un año más tarde obtiene una beca de Formación de Personal Investigador (FPI) para realizar la tesis doctoral en el departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia bajo la dirección del entonces profesor titular D. Manuel López Pérez, actual Rector Magnífico de la Universidad de Zaragoza, con quien

le unen profundos lazos de amistad y respeto, porque ser maestro, como decía Ramón y Cajal, no consiste únicamente en transmitir saberes, métodos o técnicas sino en dotar al discípulo de actitudes e inquietudes con sentido crítico y con ansias de perfección y de superación.

En 1977 obtiene el grado de doctor con la calificación de Sobresaliente cum laude y Premio Extraordinario y este mismo año es contratado como profesor ayudante en el departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad Complutense. A partir de este momento, el prof. Montoya, emprende, como decía Ortega y Gasset, la peregrinación por prestigiosos centros de investigación para conocer los avances de la ciencia que deseaba cultivar, a fin de regresar con una formación sólida sobre la que edificar su futuro profesional, porque, como dice Marañón, la vocación es el amor al deber o deber impuesto por el propio y espontáneo amor a lo elegido.

Becado por el British Council, realiza una estancia en el departamento de Microbiología de la Universidad de Bristol y dos años más tarde, con una beca de Formación de Personal investigador (FPI), se incorpora en el California Institute of Technology (USA), para trabajar con el prof. Attardi con quien participa en el proyecto genoma mitocondrial humano destinado a la secuenciación del genoma, al estudio del transcriptoma y a la identificación de las proteínas codificadas en el ADN mitocondrial.

Tras cinco años de intensa producción científica, el profesor. Montoya regresa a España con una beca del Ministerio de Educación y Ciencia para incorporarse en el departamento de Bioquímica en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Zaragoza. Un año más tarde obtiene por oposición la plaza de profesor titular y el año 2003, después de una sólida formación, obtiene por oposición la cátedra de Bioquímica y Biología celular, sintiendo la Universidad con todo su profundo contenido.

Ser universitario implica mantener día a día una renovada ilusión, bien demostrada en este caso al analizar el amplísimo currículum del doctor Montoya, porque como dice Emerson, nada grande se consigue sin entusiasmo y esfuerzo. Su labor científica es de gran fecundidad como lo demuestran 241 trabajos científicos publicados en las revistas de mayor impacto (Nature, Cell, entre otras).

Ha participado en 72 proyectos de investigación financiados por entidades públicas y privadas. Ha presentado 311 comunicaciones en Congresos y reuniones científicas, y ha organizado numerosos Congresos nacionales e internacionales. Asimismo, ha impartido 176 seminarios y conferencias y ha realizado estancias de investigación aparte de las ya indicadas, en las Universidades de Bari, Catania, Roma, Galway, Colonia, Kolm, Heidelberg, Nacional Autónoma de México, en el centro de restauración Neurológica de la Habana, y como

profesor invitado en el Wenzhou Medical College en China. Desde el año 2002 dirige el grupo consolidado de Investigación aplicada sobre Biogénesis y Patología mitocondrial, reconocido por la Diputación General de Aragón y centro de referencia en enfermedades mitocondriales desde el año 1991.

La actividad científica del profesor Montoya ha sido, y es, reconocida internacionalmente como evaluador de excelencia de la Academia de Finlandia, evaluador de la Comunidad Europea en el programa Biochemical and Health Research, y evaluador del Instituto de Salud Carlos III.

Ha desempeñado numerosos cargos de gestión en el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FISS) como presidente de la Comisión de Evaluación de Infraestructuras y Recursos Humanos y como miembro de la Comisión de Expertos y coordinador del Área de Genética. Asimismo, ha sido coordinador General de la Red de Investigación del Instituto Carlos III y, en el momento actual, preside la Comisión de Evaluación de Infraestructuras de dicho Instituto.

Ha pertenecido al Consejo Asesor de Investigación y a la Comisión de Investigación del Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (CONAI) y actualmente es miembro del Instituto de Investigación del SALUD (IIS) de Aragón.

A esta ingente labor investigadora, hay que añadir su actividad docente, porque ha sabido transmitir saberes e inquietudes con calor y entusiasmo, no como exigencia curricular, sino como reflejo de su propia búsqueda de la excelencia profesional. Ha dirigido 12 tesis doctorales que han obtenido la calificación de Apto cum laude, 9 tesis de Licenciatura, numerosos trabajos de Master y fin de carrera, y actualmente imparte las disciplinas de Bioquímica y Biología celular en las Facultades de Ciencias, Medicina y Veterinaria (Ciencia y Tecnología de alimentos), porque enseñar es ayudar a la formación de los demás, es aprender cada día algo, no pactar con la superficialidad ni con la frivolidad intelectual, lo cual supone un gozo y a la vez un tremendo pero agradable sacrificio.

Esta trayectoria científica, que como decía D. Santiago Ramón y Cajal, es la historia de una voluntad indomable, ha sido reconocida con numerosos premios y distinciones. Está en posesión del Premio Comenge concedido por la Real Academia de Farmacia de Madrid. Ha recibido el Premio de la Sociedad Española de Química Clínica; el de la Sociedad Venezolana de Puericultura y Pediatría, el Premio a la Investigación concedido por la Academia de Ciencias Exactas, Físicas, Químicas y Naturales de la Universidad de Zaragoza y el año 2004, recibe el Premio a la Excelencia investigadora concedido por el Gobierno de Aragón. Desde el año 2009 es Académico de Número de la Academia de Farmacia Reino de Aragón.

A toda esta actividad científica que he tratado de reseñar sucintamente, hay que añadir otra faceta todavía más importante, la humana, porque el doctor

Montoya, hombre parco en palabras y modesto, porque sin modestia no hay verdadera grandeza, además de ser un científico de reconocido prestigio es Asesor de la Fundación Ana Carolina Díez Mahou, y miembro del Comité Científico y Asesor de la Asociación de Enfermos con Patologías Mitocondriales (AEPMD), en la que se integran unos 200 enfermos con sus familias y cuya actividad se centra en mejorar la calidad de vida de estos y en fomentar la esperanza de un nuevo futuro.

Anualmente realizan unas jornadas en las que participan los niños afectados, junto con sus familias, personal sanitario y también investigadores, como el prof. Montoya, al que los niños comenzaron llamándole padrino y hoy le llaman abuelo, e incluso yayo, términos que según el mismo manifiesta le hacen muy feliz, ya que se considera uno más de esta gran familia. Según sus propias palabras, estas jornadas le permiten estar en contacto con todos ellos y el cariño que recibe en estas convivencias le compensa de todo y llena su vida.

Esta es, en apretada síntesis la biografía del prof. Montoya, que ratifica su calidad intelectual, su laboriosidad, su vocación universitaria y especialmente su noble y generosa humanidad, porque los ríos más profundos son siempre los más silenciosos.

La amenidad, claridad de conceptos y el buen hacer del prof. Montoya son las cualidades que nos permitirán descubrir a través de su conferencia, el presente y esbozar el futuro de las enfermedades mitocondriales, término en el que se engloban un amplio y heterogéneo conjunto de enfermedades debidas a un defecto mitocondrial primario, caracterizado en la mayoría de los casos por un trastorno de la fosforilización oxidativa y una alteración consecuente de la producción de energía.

Desde que en 1988 Wallace, Lestienn, Holt y Zeviani describieron las primeras enfermedades causadas por daños en el DNA mitocondrial hasta el momento actual se han descrito más de 250 mutaciones y muchos genes nucleares implicados en el origen de las mismas. El interés por su estudio ha crecido enormemente debido al aumento de pacientes diagnosticados: 1 de cada 5000 nacidos vivos y 5 de cada 10.000 personas presentan mutaciones en el ADN mitocondrial, por lo que la prevalencia de este heterogéneo y complejo conjunto de enfermedades, es equivalente a la de otras enfermedades neurológicas, como la Esclerosis lateral amiotrófica y superior a la de otras enfermedades neuromusculares hereditarias como la distrofia de Duchenne.

Sin embargo, la dificultad diagnóstica, la ausencia de una terapia eficaz y el hecho de que la prevención requiera del consejo genético, dan una idea de la repercusión e importancia de estas enfermedades en la sanidad pública y de la necesidad de fomentar y apoyar su investigación, porque como dice la



Doctora Margarita Salas, un país sin investigación es un país sin desarrollo y es precisamente la investigación básica quien lo impulsa.

Para concluir, felicito al prof. Montoya en nombre de esta digna Corporación y en el mío propio por su contribución a la ciencia y sobre todo como hombre bueno por su entrega y dedicación a quienes padecen estas enfermedades y a sus familias, porque como decía Albert Einstein, solamente una vida dedicada a los demás merece ser vivida.

He dicho.



## **ESTUDIO GENÉTICO-MOLECULAR DE LAS ENFERMEDADES MITOCONDRIALES HUMANAS**

Universidad de Zaragoza, CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER), Instituto de Investigación Sanitaria de Aragón.

Excelentísimo Sr. Presidente de la Real Academia de Medicina de Zaragoza,  
Excelentísimos e Ilustrísimos Académicos,  
Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades,  
compañeros, familiares y amigos,  
Señoras y Señores.

### **PRIMERAS PALABRAS**

Quiero empezar mi exposición agradeciendo la amable invitación que esta ilustre Institución ha tenido a bien realizarme y recordar a mis padres José y Otilia, médico y farmacéutica, respectivamente, que, de alguna manera, con el ambiente que se respiraba en casa, influyeron en mi decisión de dedicarme a la investigación biomédica y a que ahora esté totalmente volcado en el estudio de un tipo de las llamadas enfermedades raras como son las enfermedades mitocondriales. Asimismo, quiero agradecer a la Profesora Caridad Sánchez Acedo por su iniciativa en esta invitación y por sus amables palabras de presentación que, realmente, me han emocionado.

Como ha dicho, mi actividad investigadora se ha centrado desde el inicio de mi Tesis Doctoral en el estudio de las mitocondrias, esos pequeños orgánulos, localizados en el citoplasma de casi todas las células eucariotas, que proporcionan la mayor parte de la energía, en forma de ATP, que se necesita para el funcionamiento de las mismas y, por tanto, de todos los órganos, tejidos y organismos eucariotas en general. Son, pues, 42 años trabajando en el mismo tema aunque enfocado desde distintos puntos de vista (básico y aplicado): proyecto genoma mitocondrial y, en la actualidad, centrado en las enfermedades que se originan por el mal funcionamiento de las mitocondrias.

Como todas las historias, ésta tiene un principio en mi formación como investigador en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de

la Universidad de Madrid donde, después de licenciarme, comencé mi Tesis Doctoral bajo la dirección del Prof. Manuel López Pérez, nuestro actual Rector en la Universidad de Zaragoza. Acababa de descubrirse que las mitocondrias poseían su propio sistema genético y el Profesor López Pérez, acababa de regresar de su estancia postdoctoral en la Universidad de Bristol donde aisló y caracterizó el DNA mitocondrial del hongo *Aspergillus nidulans*. Así, me propuso realizar mi trabajo separando poblaciones mitocondriales, estudiando sus diferencias y conversión de unas en otras. Fueron mis primeros pasos en este apasionante mundo de la investigación en general y de las mitocondrias, en particular, que no he abandonado en todos los años de mi actividad investigadora. Al Profesor López le debo mucho, me introdujo en el fascinante área de la Biogénesis Mitocondrial e hizo posible, posteriormente, mi desplazamiento al California Institute of Technology donde tuve la oportunidad de unirme al grupo del Profesor Attardi, uno de los investigadores de mas prestigio en este campo, que mucho mas tarde fue nombrado doctor *honoris causa* de nuestra universidad, y de poder desarrollar un importante trabajo sobre el Proyecto Genoma Mitocondrial. He de decir, que las relaciones que se establecieron con Manolo fueron tan profundas que, excepto durante los 5 años que permanecí en California, hemos compartido trabajo, departamento, líneas de investigación y, sobre todo, una gran amistad con él y su familia; llevamos 42 años juntos y, antes, ya me había dado alguna clase de prácticas y dirigido una tesina de licenciatura en la Facultad de Farmacia de Madrid.

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las mitocondrias son orgánulos intracelulares derivados de la endosimbiosis de un organismo del grupo de las  $\alpha$ -proteobacterias con un ancestro de las células eucariotas que contenía un núcleo. A lo largo de la evolución, la mayor parte de los genes de la protomitocondria original se transfirieron al núcleo y los únicos genes que han permanecido en la mitocondria están asociados a la función de síntesis de energía, en forma de trifosfato de adenosina (ATP), a través del sistema de fosforilación oxidativa (sistema OXPHOS). Por ello, muy frecuentemente, se describe a las mitocondrias como “las centrales energéticas de la célula” ya que en ellas se produce la mayor parte del ATP que necesitan la células y que se utiliza como fuente de energía química. Estos orgánulos subcelulares se encuentran en prácticamente todas las células eucariotas (1), y su presencia es, además, una de las características que diferencian las células eucariotas de las procariotas.

Como se ha indicado, la principal función de las mitocondrias es la fosforilación oxidativa mediante la cual se conserva en forma de ATP la energía química que se libera en la oxidación de las moléculas orgánicas combustibles.

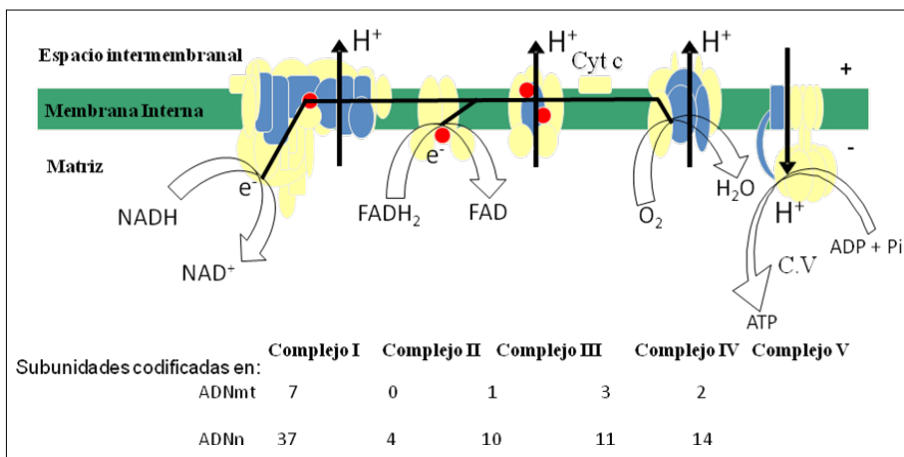


Figura 1.- Esquema del sistema de fosforilación oxidativa. En azul se representan las subunidades codificadas en el DNA mitocondrial y en amarillo las codificadas en el DNA nuclear. Puntos rojos: coenzima Q. CI a V: Complejos 1 al 5. En la parte inferior figura el número de subunidades codificadas en uno u otro genoma.

La cadena respiratoria transporta electrones entre los complejos respiratorios para, finalmente, reducir el oxígeno a agua. A la vez, los protones se translocan desde la matriz mitocondrial al espacio intermembrana, creando un gradiente electroquímico que será utilizado por la ATP sintasa, reconduciendo estos protones a la matriz, para producir ATP (Figura 1). Parte de la energía producida por el transporte de electrones se libera en forma de calor y una fracción de los electrones reacciona tempranamente con el oxígeno produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS).

Pero además de proporcionar la mayor parte de la energía que utiliza la célula, las mitocondrias participan también en otras muchas rutas metabólicas ( $\beta$ -oxidación de los ácidos grasos, biosíntesis de pirimidinas, aminoácidos, fosfolípidos, nucleótidos, ácido fólico, hemo, urea y una gran variedad de metabolitos) (2), y en una serie de procesos como la diferenciación celular, señalización, muerte celular, control del ciclo y crecimiento celular (3).

Sin embargo, la característica mas singular de las mitocondrias es la de poseer un sistema genético propio con toda la maquinaria necesaria para su expresión, es decir, para replicar, transcribir y traducir la información genética que contiene en proteínas funcionales (Figura 2). Pero las mitocondrias no son del todo autónomas ya que dependen en gran medida del sistema genético nuclear tanto para la formación del orgánulo como para la expresión de su sistema genético (Figura 2). La mayoría de las proteínas componentes de la

mitocondria, aproximadamente unas 1.500, incluidas aquellas necesarias para la expresión de su genoma, están codificadas en el núcleo, se sintetizan en el citoplasma, generalmente en forma de precursores, y finalmente se importan y procesan en el interior del orgánulo. Por el contrario, el genoma mitocondrial codifica solamente un pequeño número de polipéptidos, componentes del sistema OXPHOS, y los RNAs de la maquinaria de síntesis de los mismos. Así, la biogénesis de las mitocondrias y en concreto del sistema OXPHOS, representa un caso muy particular en la célula ya que su formación depende de la contribución de los sistemas genéticos, nuclear y mitocondrial.

Los primeros indicios de existencia de un sistema genético en el citoplasma, fuera del núcleo, datan de 1949 al descubrirse unos mutantes de levadura con deficiencias en las funciones respiratorias que se debían a un factor citoplásmico, no nuclear, y que era hereditario (4). Sin embargo, el DNA mitocondrial (mtDNA) no se descubrió hasta los años 60 en células de pollo (5); unos años mas tarde se describió su existencia en células humanas (6) y, pocos años después, Attardi demostró que era funcional, es decir, que se transcribía en RNA (7,8) y que éste se traducía en proteínas en ribosomas mitocondriales (9,10), constituyendo, de este modo, el segundo sistema genético de la célula.

Los años 80 fueron decisivos para el conocimiento de la estructura y función de este sistema genético (11,12). Así, se pudo comprobar que el genoma mitocondrial presenta una serie de características únicas como son el modo de organización y de expresión génica, la utilización de un código genético modificado,

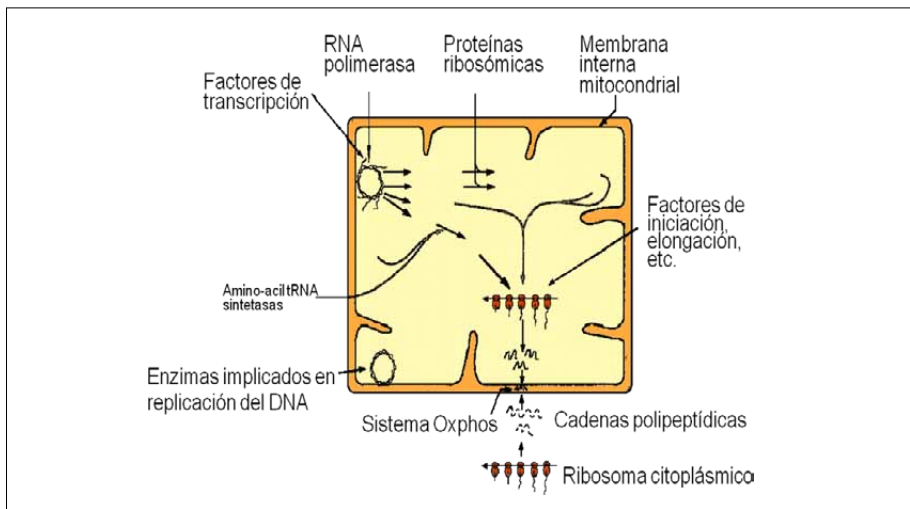


Figura 2.- Esquema de la función del DNA mitocondrial

su presencia en poliploidía, la herencia materna, una alta velocidad de mutación, etc. Todo esto sirvió de base para que 1988 se descubrieran las primeras mutaciones que producían enfermedades genéticas mitocondriales (13-15).

El termino patología mitocondrial o mitocondriopatía puede abarcar a cualquier trastorno producido por defectos en una de las muchas rutas metabólicas que tienen lugar en la mitocondria, pero tradicionalmente se ha utilizado para significar aquellas enfermedades causadas por defectos en el sistema OXPHOS porque es en el único en el que participa el mtDNA como codificante de proteínas. Así, las enfermedades mitocondriales o del sistema OXPHOS se pueden definir como un grupo de trastornos que tienen en común el estar producidos por una deficiencia en la biosíntesis de ATP. Puesto que la biosíntesis del sistema OXPHOS está bajo el control de los dos sistemas genéticos de la célula, estas enfermedades pueden estar causadas por mutaciones en ambos DNAs y pueden mostrar distintos patrones de herencia: materna o mendeliana (autosómica recesiva, autosómica dominante, ligada a cromosoma X).

Desde el descubrimiento de las primeras mutaciones en el mtDNA asociadas a estas enfermedades, el estudio de la bioenergética y genética mitocondrial ha adquirido nuevas dimensiones. Hoy en día se conoce un buen número de mutaciones en el mtDNA que se han asociado con diversas enfermedades degenerativas producidas por deficiencias bioenergéticas y también, con el envejecimiento y enfermedades relacionadas con la edad, dando lugar al nacimiento de lo que se conoce como "medicina mitocondrial" (16,17).

## II. EL SISTEMA GENÉTICO MITOCONDRIAL HUMANO

El DNA mitocondrial (mtDNA) es un conjunto de moléculas de DNA circulares, cerradas y superenrolladas presentes en la matriz mitocondrial. En general, las células humanas contienen miles de mitocondrias y cada una de ellas es poliploide; contienen de 2 a 10 moléculas de DNA asociadas con proteínas formando unos complejos conocidos como nucleoides (18,19). Sin embargo, el mtDNA representa solamente un 0'3 - 0'5% del DNA celular total.

El mtDNA humano consta de 16.569 pares de bases y codifica solamente 37 genes que corresponden a 24 RNAs implicados en la maquinaria de síntesis de proteínas en las mitocondrias [2 RNA ribosómicos (rRNAs) y 22 RNA de transferencia (tRNAs)] y 13 proteínas integrantes de los complejos multienzimáticos del sistema OXPHOS: siete de los 46 polipéptidos del complejo I o NADH:ubiquinona oxidoreductasa; uno (cytb) de los 11 polipeptidos del complejo III o ubiquinol:citocromo c oxidoreductasa; tres (COI, II, III) de los 13 del complejo IV o citocromo c oxidasa; y dos (ATP6 y 8) de los 16 de la ATP sintasa (complejo V) (Figura 3). Asimismo, tiene una zona no codificante de unos 1.200

pb que contiene el origen de replicación de la cadena H ( $O_H$ ), los promotores de la transcripción y los elementos reguladores de la expresión del mtDNA.

El mtDNA presenta una organización genética extremadamente compacta. Como se puede observar en la Figura 3, donde se muestra el mapa genético y de transcripción del mtDNA humano, éste se encuentra prácticamente saturado por genes dispuestos en las dos cadenas y carecen de intrones. Los genes codificantes de los tRNAs se encuentran distribuidos de forma homogénea a lo largo de la secuencia del DNA separando casi con absoluta regularidad el resto de los genes. Esta disposición tiene consecuencias muy importantes para el procesamiento del RNA como indicaremos mas adelante.

### III. REPLICACIÓN Y EXPRESIÓN DEL DNA MITOCONDRIAL

En los años 70 se propuso un modelo de replicación del mtDNA basado fundamentalmente en los resultados de microscopía electrónica obtenidos en el laboratorio de Jerome Vinograd (20,21). Este modelo, denominado “desplazamiento de hebra”, ha estado en vigor durante mas de 30 años hasta que, recientemente, y basado en técnicas electroforéticas en dos dimensiones, se ha propuesto otro modelo, “acoplado” que estaría mas próximo al descrito en bacterias. La controversia continúa en estos momentos.

El primer modelo nos dice que la replicación del mtDNA es unidireccional y asimétrica y sugiere que las dos hebras del mtDNA se replican, de forma continua, a partir de dos orígenes de replicación diferentes, uno para la cadena pesada ( $O_H$ ), localizado en la región del bucle-D, y otro para la cadena ligera ( $O_L$ ), situado entre los genes de los tRNA<sup>Cys</sup> y tRNA<sup>Asn</sup> dos tercios mas allá del primero (22), y requiere un desplazamiento extenso de una de las hebras del DNA parental durante la síntesis de la hebra H.

El segundo modelo es de replicación unidireccional y simétrica desde un único origen de replicación, a semejanza con el DNA bacteriano (23,24). En el primer modelo no se requeriría la síntesis de fragmentos de Okazaki mientras que en el segundo son imprescindibles.

Al tiempo que se iba determinando la secuencia completa del mtDNA en el laboratorio del Dr. F. Sanger (premio Nobel) en Inglaterra, en los años 80, en el laboratorio del Dr. Giuseppe Attardi en el Instituto de Tecnología de California, Montoya y Ojala construyeron un mapa detallado de transcripción del mtDNA humano y dieron a conocer un modelo de transcripción y de procesamiento de RNA por “puntuación por tRNAs” (25-30) (Figura 3).

La transcripción del mtDNA se inicia a partir de tres puntos de iniciación diferentes (29), dos para la cadena pesada ( $H_1$  y  $H_2$ ) y uno para la cadena ligera



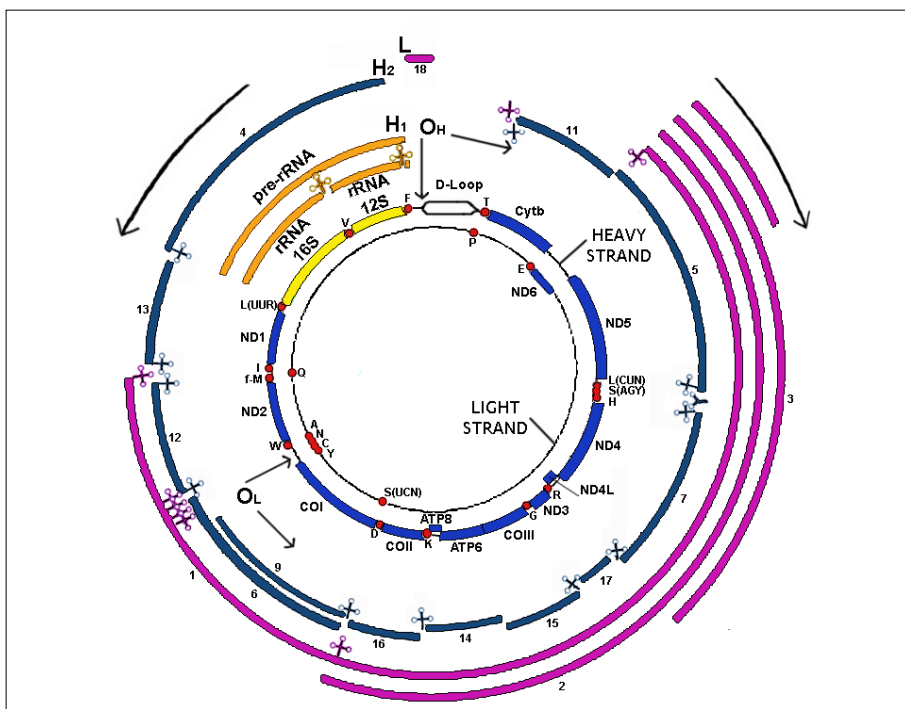


Figura 3.- Mapa genético y de transcripción del DNA mitocondrial humano. Los círculos internos muestran el mapa del ADN mitocondrial con los genes que codifican: rRNAs (12S y 16S) en amarillo, tRNAs (círculos rojos), y secuencias codificadoras de proteínas en azul (ND: subunidades de la NADH deshidrogenasa; cyt b: apocitocromo b; CO: subunidades de la citocromo c oxidasa). Los círculos exteriores muestran el mapa de transcripción de la cadena pesada (barras anaranjadas y azules) y ligera (barras rosas). OH y OL representan el origen de replicación de la cadena pesada y ligera. H1, H2 y L indican los sitios de iniciación de la transcripción.

(L), que dan lugar a tres moléculas policistrónicas largas que, posteriormente, se procesan por cortes endonucleolíticos precisos, justo delante y detrás de las secuencias de los tRNAs que actúan como señales de reconocimiento para las enzimas de procesamiento originando los rRNAs, tRNAs y mRNAs maduros (27-31) (Figura 3). Así, la cadena H se transcribe mediante dos unidades de transcripción solapadas en la región de los rRNAs (30). La primera comienza en el lugar de iniciación H<sub>1</sub>, situado por delante del gen tRNA<sup>Phe</sup>, termina en el extremo 3' del gen para el rRNA 16S y es responsable de la síntesis de los rRNAs 12S y 16S, del tRNA<sup>Phe</sup> y del tRNA<sup>Val</sup>. Un factor de terminación (mTERF) actúa uniéndose en el gen del tRNA<sup>Leu</sup>, en una secuencia inmediatamente posterior al gen del rRNA 16S (32-36). El segundo proceso de transcripción, mucho menos frecuente que el anterior, comienza en el punto de iniciación H<sub>2</sub>, cerca del

extremo 5' del gen rRNA 12S y origina un RNA policistrónico que corresponde a casi la totalidad de la cadena pesada. Los mRNAs de los 12 péptidos y de 12 tRNAs, codificados en esta cadena, se originan por procesamiento de este RNA policistrónico. Del mismo modo, la cadena ligera se transcribe mediante una única unidad de transcripción que empieza en el lugar de iniciación L, cerca del extremo 5' del RNA 7S, dando lugar a 8 tRNAs, al único mRNA (ND6) codificado en esa cadena y al cebador de la replicación de la cadena H.

Para llevar a cabo el proceso de transcripción se necesita una RNA polimerasa específica (h-mtRPOL), codificada en el DNA nuclear (nDNA) (37,38), tres factores de transcripción implicados en la iniciación (mtTFA, mtTFB1 y mtTFB2) (39,40), y uno de terminación (mTERF) (32,34-36), todos ellos codificados en el DNA nuclear. Asimismo, en el procesamiento de los RNAs precursores están implicados enzimas que cortan con precisión en los extremos 5' y 3' de los tRNAs, una tercera que proporcione la poliadenilación y finalmente una cuarta actividad enzimática que añada el triplete -CCA al extremo 3' de los tRNAs. Dadas las características de los genes mitocondriales, los cortes endonucleolíticos se tienen que producir con extraordinaria precisión, exactamente en los extremos 5' y 3' de los tRNAs, para que en el RNA anterior a dicho tRNA origine por poliadenilación el codón de terminación, y para que el RNA posterior empiece por el codón de iniciación.

El análisis estructural de los RNAs mitocondriales mostró también características únicas. Los rRNAs están metilados, aunque el grado de metilación es más bajo que el de los rRNAs citoplásmicos, y por estar oligoadenilados en su extremo 3' con 1 a 10 adeninas no codificadas en el DNA (41). Los tRNAs tienen un tamaño que varía entre 59 y 75 nt y su estructura presenta numerosas desviaciones con respecto al modelo considerado como invariable de los sistemas no mitocondriales. Así, la mayoría de los tRNAs carecen de los nucleótidos constantes y el tamaño del bucle "DHU" varía considerablemente llegando incluso a desaparecer en el tRNA<sup>Ser(AGY)</sup>. Aparte del -CCA del extremo 3', no codificado en el DNA, la única región que ha conservado las características generales de los tRNAs es la región del anticodón. Los mRNAs mitocondriales humanos comienzan directamente por el codón de iniciación AUG, AUA o AUU o tienen muy pocos nucleótidos (1 a 3) delante de los mismos. Carecen por tanto de uno de los caracteres típicos de los mRNA de otros sistemas, como es la presencia de un tramo no codificante en el extremo 5' (28). Tampoco contienen la capucha en el extremo 5'. Asimismo, el extremo 3' de la mayor parte de los mRNAs carecen de una región no codificante y finalizan U o UA, generándose el codón de terminación completo (UAA) por la poliadenilación postranscripcional (27). Estos mRNAs carecen de una secuencia indicadora de poliadenilación.

El modelo de transcripción descrito muestra como la iniciación juega un papel muy importante en la regulación de la expresión génica y explica el modo de sín-

tesis diferencial de rRNAs y mRNAs (30). En esta regulación parece jugar también un papel muy importante la fosforilación del factor de terminación mTERF (35,42).

Los mRNA mitocondriales traducen su mensaje genético en el interior de las mitocondrias mediante un sistema de síntesis de proteínas propio. En humanos, los componentes de los ribosomas mitocondriales están codificados por los dos sistemas genéticos de la célula: los rRNAs por el mtDNA, mientras que las proteínas por el genoma nuclear. Por otra parte, el código genético utilizado por la mitocondria es algo diferente del código universal. Así, el codón UGA actúa como codificante de triptófano en lugar de ser uno de los codones de terminación. Asimismo, además de AUG, la mitocondria humana utiliza AUA y AUU como codones de iniciación, mientras que AGA y AGG, codones de arginina en el código universal, son señales de terminación. Estas u otras alteraciones semejantes se han encontrado en las mitocondrias de todos los organismos estudiados.

Para la traducción del mensaje genético, la mitocondria utiliza una serie de factores de traducción específicos, todos ellos codificados también en el núcleo.

Los polipéptidos sintetizados en los ribosomas mitocondriales forman parte del sistema OXPHOS y tienen que ensamblarse con las proteínas componentes de este sistema que están codificados en el DNA nuclear (nDNA). Por lo tanto, la biogénesis de este sistema depende de la expresión coordinada de los genomas mitocondrial y nuclear, lo que representa un caso único en la célula.

Todo este trabajo se llevó a cabo entre 1979 y 1983 con una comunicación directa entre los dos grupos (Sanger y Attardi) que nos permitió publicar 3 magníficos artículos en el mismo número de la revista Nature. Era una época sin ordenadores personales, sin internet, por tanto, sin mails, sin WhatsAspp, ni tan siquiera con el hoy abandonado fax. No se conocía ni la hoy tan utilizada técnica del PCR; todo el trabajo se hizo a mano, aislando gen a gen, RNA a RNA y con aparatos de secuenciación hoy en día totalmente en desuso.

Quizá mi decisión de dedicarme, años después, a las enfermedades mitocondriales, nació en el momento en el que el Prof. Attardi, después de que presentáramos internacionalmente nuestro trabajo sobre el proyecto genoma mitocondrial, me dijo, mientras me apretaba fuertemente la mano: “llegará un momento en que se descubran enfermedades debidas a mutaciones en este genoma y seguro que serán muy importantes”. Y así ha sido.

#### **IV. CARACTERES DIFERENCIALES DE LA GENÉTICA MITOCONDRIAL**

Casi al mismo tiempo que se iban determinando las características moleculares del sistema genético mitocondrial, se descubrió que el mtDNA se

heredaba exclusivamente por vía materna (43) y que su localización, en un orgánulo citoplasmático, y el alto contenido de copias de mtDNA por célula otorgaban unas características genéticas propias que las diferencian de las del DNA nuclear. Así:

1. **Modo de herencia.** El mtDNA se hereda exclusivamente por vía materna. La madre trasmite el genoma mitocondrial a todos sus hijos pero solo las mujeres lo pasan de nuevo a la siguiente generación. Esto se debe al elevado número de copias de mtDNA que contienen los óvulos y a que las mitocondrias del espermatozoide se eliminan por un proceso activo en los primeros estadios de división celular (44).
2. **Poliplasmia.** El número de moléculas de mtDNA es, en general, elevado y varía entre unas pocas en las plaquetas, a unas 150.000 copias en el oocito. Sin embargo, la mayor parte de los tejidos contienen entre 1.000 y 10.000 copias por célula, con 2 a 10 moléculas de DNA por mitocondria. En un principio, todas las células de un individuo tienen el mismo tipo de mtDNA (homoplasmia) pero, debido a la alta tasa de mutación que presenta el mtDNA, como veremos mas adelante, es probable que aparezca una mutación y que puedan coexistir dos poblaciones de mtDNA, una normal y otra mutada (heteroplasmia).
3. **Segregación mitótica.** Cuando existe una heteroplasmia, las moléculas de mtDNA segregan al azar entre las células hijas durante la división celular, pudiendo dar lugar a tres posibles genotipos: homoplásmicos normal y mutante y heteroplásmico con porcentajes variables de mtDNA mutado. Por tanto, el fenotipo de una célula, órgano o tejido con heteroplasmia dependerá del porcentaje y naturaleza del DNA mutado que contenga y hará que las enfermedades mitocondriales sean de afectación multisistémica.
4. **Expresión umbral.** Un tejido funcionará perfectamente mientras tenga un porcentaje de copias de mtDNA normal suficientemente elevado como para producir la cantidad necesaria de ATP para su funcionamiento. Sin embargo, cuando el número de copias de mtDNA mutado sobrepasa un nivel determinado, diferente para cada tejido, la producción de ATP se verá afectada y, por debajo de un nivel umbral, aparecerán las manifestaciones de la enfermedad.

Como no todos los tejidos tienen las mismas necesidades energéticas no todos se verán afectados del mismo modo al pasar los niveles umbrales de producción de ATP. Los tejidos mas afectados son el sistema nervioso y el muscular, aunque realmente, cualquier órgano o tejido puede verse implicado.

5. **Alta tasa de mutación.** El mtDNA es muy vulnerable y presenta una tasa de mutación espontánea 10-20 veces superior a la del ADNn. Este hecho parece que es una consecuencia de la alta producción de radicales de oxígeno que se originan constantemente en la mitocondria y que dañan a un DNA con información genética muy compacta, que no está protegido por histonas, y en el que los mecanismos de reparación parecen ser insuficientes.

## V. CRITERIOS DIAGNÓSTICOS

Las enfermedades mitocondriales o del sistema OXPHOS se definen como un grupo de trastornos que tienen en común el estar producidos por defectos en el sistema de fosforilación oxidativa que conlleva una deficiencia en la biosíntesis de ATP.

Desde que se descubrió y se caracterizó el mtDNA se pensó en la posible existencia de enfermedades genéticas de origen mitocondrial, que podrían estar asociadas a defectos en OXPHOS, y que se presentasen con un modo de herencia materna. Sin embargo, no fue hasta 1988 cuando se describieron las primeras mutaciones en el mtDNA asociadas a enfermedades mitocondriales humanas [Wallace, 1988 #1149; Holt, 1988 #650; Lestienne, 1988 #1136; Zeviani, 1988 # 637]. Desde entonces, el número de mutaciones y el espectro de enfermedades por ellas producidas ha crecido enormemente y se han descubierto muchos genes nucleares implicados también en el origen de las mismas.

### 1. Manifestaciones clínicas

La característica que mejor define a la patología mitocondrial es su enorme complejidad. Como las mitocondrias se encuentran en todos los órganos y tejidos, estas enfermedades serán, en general, multisistémicas y se presentan con un amplio espectro de fenotipos (Tabla 1). A veces, las manifestaciones de la enfermedad pueden encuadrarse en síndromes bien definidos pero, en la mayoría de los casos, hay una sintomatología solapada o, como sucede en los niños, esta no queda claramente definida por no haberse desarrollado del todo. Asimismo, en algunos casos, las enfermedades mitocondriales pueden afectar solamente a un tejido específico como el nervio óptico en la Neuropatía Óptica Hereditaria de Leber (LHON) o a las células cocleares en un tipo de sordera mitocondrial (45). En todo caso, habrá que tener en cuenta que nos podemos encontrar con que mutaciones ligadas a un fenotipo concreto, puedan ser la causa de nuevos fenotipos (una misma mutación puede dar origen a síndromes muy diversos) y de que un síndrome determinado pueda estar causado por mutaciones localizadas en genes distintos.

La posibilidad de existencia de enfermedad mitocondrial se debe tener en cuenta cuando un paciente presenta una asociación de síntomas bastante inexplicable, con un rápido y progresivo curso de la enfermedad, implicando órganos no relacionados. Entre las manifestaciones clínicas más comunes se encuentran una o varias de las siguientes: encefalopatía, desórdenes motores, accidentes cerebro-vasculares, convulsiones, demencia, retraso mental, miopatía, intolerancia al ejercicio, ptosis, oftalmoplejía, retinopatía pigmentaria, atrofia óptica, ceguera, sordera, cardiomiopatía, defectos en la conducción cardíaca, disfunciones hepáticas y pancreáticas, diabetes, defectos de crecimiento, anemia sideroblástica, pseudo-obstrucción intestinal, nefropatías, acidosis metabólica y otras más secundarias.

Según las manifestaciones clínicas que presenten, se deben realizar estudios oftalmológicos, de neuroimagen, pruebas neurofisiológicas, audiometría, endoscopia, ensayos de función renal, agudeza visual, electrocardiogramas, ecocardiogramas, espectroscopía de resonancia magnética, etc. para determinar el metabolismo energético de cerebro y músculo in vivo.

## **2. Análisis de laboratorio**

Una de las manifestaciones bioquímicas más comunes de las enfermedades mitocondriales, aunque no de forma general ni específica, es la elevación de lactato por encima de 2,5 mM. Este dato, junto a piruvato y su relación molar, se deben de determinar en plasma y a ser posible en líquido cefalorraquídeo. También se deben de estudiar los niveles de coenzima Q, folato, cuerpos cetónicos, glucosa, aminoácidos, carnitina, creatinina, urea, ácidos grasos no esterificados, y niveles de hormonas cuando esté clínicamente indicado. La determinación de los niveles de folato en sangre y en líquido cefalorraquídeo ha adquirido mucha importancia ya que algunas enfermedades mitocondriales, en particular el síndrome de Kearns-Sayre, cursan con una deficiencia de folato cerebral (46,47).

## **3. Estudios anatomopatológicos**

El análisis histoquímico de biopsias musculares es de extraordinaria importancia para la detección de anomalías mitocondriales. Una de las características morfológicas más típicas de estas enfermedades es la presencia de fibras rojo-rasgadas (RRF) en biopsias musculares teñidas con tricromo de Gomori modificado, o con la reacción para succinato deshidrogenasa (SDH), y la presencia de fibras no reactivas a la tinción histoquímica de la citocromo c oxidasa (COX negativas) permite observar la gravedad de la deficiencia enzimática. La microscopía electrónica puede revelar la presencia de inclusiones paracrystalinas o de mitocondrias con forma y tamaño anormales, aunque no es de mucho valor en el diagnóstico mitocondrial.

CONFERENCIAS Y COMUNICACIONES

<b>ÓRGANO/TEJIDO</b>	<b>MANIFESTACIONES CLÍNICAS/ CARACTERES</b>
Sistema Nervioso	Encefalopatía Accidentes cerebro vasculares Retraso mental y psicomotor Demencia Ataxia cerebelar Convulsiones Mioclonías Migraña Ceguera cortical Epilepsia Neuropatía periférica
Músculo	Miopatía progresiva Intolerancia al ejercicio Debilidad Oftalmoplejía Ptosis Mioglobinuria
Sangre	Anemia sideroblástica Acidosis láctica Pancitopenia
Ojo	Atrofia óptica Retinitis pigmentaria Cataratas Diplopia
Oído	Sordera
Corazón	Cardiomiopatía Defectos de conducción cardíaca
Sistema endocrino	Diabetes mellitus Diabetes insipidus Hipoparatiroidismo Hipotiroidismo Baja estatura
Intestino	Pseudo obstrucción intestinal Vómitos
Páncreas	Disfunción pancreática exocrina
Hígado	Fallo hepático
Riñón	Síndrome de Fanconi Fallo renal
Morfología muscular	Fibras rojo-rasgadas en biopsias musculares Inclusiones paracristalinas en mitocondria
Histoquímica	Fibras COX negativas
Bioquímica	Disminución de actividad de complejos respiratorios y/o de enzimas respiratorios en biopsias musculares.
Laboratorio	Acidosis láctica en sangre Acidosis láctica en líquido cerebroespinal Hipoglucemia

Tabla 1.- Criterios Diagnósticos en Enfermedades causadas por mutaciones en el ADN mitocondrial.

#### **4. Estudios bioquímicos**

Quizá la prueba mas concluyente de padecimiento de una enfermedad del sistema OXPHOS se obtiene mediante la determinación de la actividad enzimática de los complejos respiratorios mitocondriales. Estos pacientes muestran un rango de actividades enzimáticas que van desde la normalidad, a defectos aislados o múltiples de complejos. En general, el tejido que debe ser analizado es aquel en el que se expresa la enfermedad; como el músculo suele estar siempre afectado, este es el tejido habitualmente más utilizado. Si no es posible, al menos se debe de realizar biopsias de piel para estudios en fibroblastos en cultivo.

#### **5. Estudios de ensamblaje y actividad de complejos OXPHOS**

El ensamblaje de los complejos que forman parte del sistema OXPHOS se puede estudiar mediante electroforesis en geles nativos de poliacrilamida (blue native polyacrylamide gel electrophoresis), sin disociarlos en sus constituyentes polipeptídicos (48). Esta técnica permite cuantificar los niveles de los complejos OXPHOS perfectamente ensamblados y puede ser de gran ayuda a la hora de decidir hacia donde enfocar los estudios moleculares. Asimismo, se puede determinar la actividad enzimática en gel.

#### **6. Análisis del pedigrí y genético-moleculares**

La historia familiar y el análisis del pedigrí puede proporcionar pistas acerca del posible modo de herencia de la enfermedad. Las enfermedades del sistema OXPHOS, pueden presentarse tanto con un tipo de herencia materna como mendeliana (autosómica dominante, autosómica recesiva o ligada al cromosoma X) debido al doble origen genético de este sistema.

Dada la heterogeneidad de las manifestaciones clínicas, morfológicas y bioquímicas de las enfermedades mitocondriales se hace necesario llevar a cabo un análisis genético-molecular que determine la mutación causante de la enfermedad. Pero, ¿que mutaciones hay que estudiar ante un caso de enfermedad mitocondrial?. Si los pacientes han sido evaluados con precisión, el análisis puede restringirse a unas pocas mutaciones que representan la mayor parte de los casos. Solamente, ante la presencia de defectos concretos en la actividad de la cadena respiratoria, se debe iniciar un estudio de la presencia de otras mutaciones descritas o secuenciar la molécula completa de mtDNA, dada la facilidad con la que se puede obtener su secuencia. Los resultados de las investigaciones previas deberían guiar los estudios genéticos que se deben de realizar. El análisis genético-molecular del mtDNA sólo debería llevarse a cabo cuando los ensayos clínicos, morfológicos, bioquímicos, etc., indiquen el padecimiento de una enfermedad de este tipo. Sin embargo, hoy en día,



dada la rapidez con que se pueden realizar los análisis moleculares, es muy frecuente, sobre todo en la infancia, que éstos se hagan después de que una exploración clínica demuestre indicios de una enfermedad mitocondrial y antes de que se hayan podido estudiar otros parámetros.

## **VI. ENFERMEDADES CAUSADAS POR MUTACIONES EN EL DNA MITOCONDRIAL**

Con todo lo anteriormente mencionado, se puede entender que el número de trastornos y de mutaciones en el mtDNA es muy grande (se han descrito más de 270 mutaciones puntuales y numerosas deleciones diferentes), por lo que, en este apartado, solamente me referiré a los fenotipos más característicos y a las mutaciones o zonas calientes que más comúnmente se han asociado a los mismos (Tabla 2), dejando de lado un número muy grande de mutaciones que, en general, se han descrito solamente en casos aislados.

En esta descripción de trastornos mitocondriales, los clasificaremos de acuerdo al tipo de mutaciones que los producen más que con respecto a los síntomas clínicos. Así, las enfermedades producidas por daños en el mtDNA se pueden dividir en tres grandes grupos, según estén asociadas a: mutaciones puntuales, deleciones o depleción de mtDNA.

### **1. Enfermedades causadas por mutaciones puntuales en el mtDNA**

Hasta el momento se han descrito 277 mutaciones puntuales patológicas distribuidas a lo largo de los 37 genes que codifica el mtDNA y que, en general, responden a un tipo de herencia materna. De éstas, 162 se han encontrado en genes codificantes de RNAs que participan en la maquinaria de síntesis de proteínas (tRNAs y rRNAs) y 115 en los genes codificantes de proteínas. Algunas de estas mutaciones aparecen frecuentemente asociadas a síndromes concretos (mutaciones comunes) y se describen en la Tabla 2. El resto solo se han encontrado en casos puntuales. En la base de datos de MITOMAP (<http://www.mitomap.org>) o en diferentes revisiones se pueden encontrar las mutaciones que se han asociado a patologías determinadas y que se consideran patogénicas (45,49,50).

Entre las enfermedades más frecuentes causadas por mutaciones puntuales en genes codificantes de proteínas podemos citar:

*Neuropatía óptica hereditaria de Leber (LHON).*

Esta enfermedad se caracteriza clínicamente por neuropatía óptica bilateral aguda o subaguda con atrofia óptica, pérdida repentina de la visión central, edema del disco óptico, microangiopatía y un defecto grande del

ENFERMEDAD	MUTACIÓN	GEN
<b>LHON</b>	m.3460G>A	ND1
	m.11778G>A	ND4
	m.14484T>C	ND6
<b>NARP</b>	m.8993T>G/C	ATP6
	m.9176T>G/C	ATP6
<b>Leigh (MILS)</b>	m.8993T>G/C	ATP6
	m.9176T>G/C	ATP6
<b>MELAS</b>	m.3243A>G	tRNA <sup>Leu</sup> (UUR)
	Hot spot	tRNA <sup>Leu</sup> (UUR)
<b>MERRF</b>	m.8344A>G	tRNA <sup>Lys</sup>
	Hot spot	tRNA <sup>Lys</sup>
<b>Diabetes y Sordera</b>	m.3243A>G	tRNA <sup>Leu</sup> (UUR)
<b>Sordera no sindrómica inducida por aminoglicósidos</b>	m.1555A>G	rRNA 12S
<b>Sordera neurosensorial</b>	Hot spot	tRNA <sup>Ser</sup> (UCN)
<b>CPEO</b>	Delección única	Varios genes
	m.3243A>G	
	Delecciones múltiples	
<b>Kearns-Sayre</b>	Delección única	
<b>Pearson</b>	Delección única	

TABLA 2.- Mutaciones del DNA mitocondrial más frecuentes y enfermedades asociadas.

campo visual central. Suele aparecer en la segunda o tercera década de la vida, y afecta más a hombres que a mujeres. Normalmente sólo la visión está afectada pero hay casos en los que también aparecen trastornos en la conducción cardíaca, neuropatía periférica y ataxia cerebelar. Mas del 90% de los pacientes con LHON presentan una de las tres siguientes mutaciones, m.3460G>A, m.11778G>A y m.14484T>C localizadas en los genes de ND1, ND4 y ND6 del complejo I, respectivamente. La G11778A es la que provoca la forma más grave de la enfermedad y es la responsable del 50% de los casos. Estas mutaciones se encuentran fundamentalmente en homoplasmia si bien también aparecen en heteroplasmia en los individuos afectados. Se han detectado otras mutaciones que se consideran patológicas, casi todas situadas en un fragmento del gen que codifica ND6, aunque el número de pacientes en los que se ha encontrado es muy bajo (<http://www.mitomap.org>) (51,52).

Estas mutaciones presentan baja penetrancia ya que la mayoría de los familiares de los pacientes son asintomáticos a pesar de poseer también la mutación en homoplasmia. Esto hace pensar en que factores: ambientales, como la exposición a tabaco y alcohol, o genéticos, mutaciones en el mtDNA o incluso en el ADNn, pueden ejercer una influencia en la aparición de la enfermedad. Recientemente se ha mostrado que los familiares asintomáticos presentan niveles de mtDNA mas elevados que los individuos afectados (53,54)

*Síndrome de NARP (Neuropatía, Ataxia y Retinopatía Pigmentaria)*

Este síndrome, caracterizado por debilidad muscular neurogénica, neuropatía sensorial, ataxia, retinopatía pigmentaria, convulsiones, demencia, retraso en el desarrollo, con un curso lento de la enfermedad, aparece en la infancia o en adultos jóvenes. La biopsia muscular no muestra la presencia de fibras rojorastgadas. Las imágenes de RMN revelan una atrofia del cerebelo y del tronco cerebelar. La causa genética mas habitual es la presencia de las mutaciones m.8993T>G/C y m.9176T>G/C en gen codificante de la subunidad 6 de la ATP sintasa. En general, la mutación se encuentra en forma heteroplásmica en un rango inferior al 90% en todos los tejidos estudiados aunque en nuestro laboratorio hemos diagnosticado pacientes con un porcentaje de la mutación cercano al 95%. Existe una alta correlación entre el contenido de mtDNA mutado y la severidad de la enfermedad.

*Síndrome de Leigh de herencia materna (MILS)*

El síndrome de Leigh es una enfermedad neurodegenerativa multisistémica muy grave que suele aparecer en el primer año de vida y que se debe a una caída muy importante en la producción de energía en el cerebro en desarrollo. Las manifestaciones clínicas más evidentes son disfunciones del tallo cerebral y de los ganglios basales, desmielinización, regresión psicomotora, retraso en el desarrollo, convulsiones, ataxia, neuropatía periférica, hipotonía, mioclonías, atrofia óptica, dificultades en la alimentación, vómitos, etc. Los niveles de lactato y piruvato están muy elevados en sangre y líquido cerebro-espinal. El diagnóstico se confirma por neuroradiología que muestra la presencia de lesiones necróticas cerebrales focales en el tálamo, tallo cerebral y núcleo dentado.

Esta enfermedad se puede producir por mutaciones en genes tanto mitocondriales como nucleares y puede presentar diferentes tipos de herencia: materna (mitocondrial), autosómica recesiva, o ligada al cromosoma X. La forma que se hereda por vía materna (MILS), está causada fundamentalmente por la mutación m.8993T>G, en el gen de la subunidad 6 de la ATP sintasa del mtDNA, la misma que causa el síndrome de NARP pero, en este caso, aparece con un porcentaje superior al 90%. Existen otras formas menos graves de la enfermedad que se han asociado con un cambio m.8993T>C.

*Síndrome de MELAS (encefalomiopatía mitocondrial con acidosis láctica y episodios de accidentes cerebro-vasculares)*

Este síndrome está caracterizado por encefalomiopatía, acidosis láctica, y accidentes cerebro-vasculares recurrentes y transitorios, producidos a edad temprana, que provocan una disfunción cerebral subaguda y cambios en la estructura cerebral con acompañamiento de hemiparesis y ceguera cortical. Otras síntomas comunes son: convulsiones generalizadas, migraña, sordera, demencia, vómitos, debilidad en las extremidades. La biopsia muscular suele presentar fibras rojo-rasgadas pero suelen ser reactivas a la reacción de la citocromo c oxidasa.

El 80% de los casos está provocado por la mutación m.3243A>G, localizada en el gen tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>, pero también se han encontrado otras mutaciones en el mismo tRNA y en genes codificantes de proteínas del complejo I. Todas las mutaciones están en forma heteroplásmica y presentan una clara herencia materna aunque raramente hay más de un miembro de la familia afectado.

La mutación m.3243A>G se ha encontrado también relacionada con otras enfermedades muy distintas como oftalmoplejía progresiva externa, cardiomiopatías e incluso con diabetes mellitus y sordera, por lo que la relación genotipo-fenotipo no es muy fija. La alta frecuencia con que aparece esta mutación hace que sea de análisis obligatorio cuando estamos ante enfermedades con sintomatología no muy clara.

*Síndrome de MERRF (epilepsia mioclónica con fibras rojo-rasgadas)*

El síndrome de MERRF presenta como caracteres clínicos principales epilepsia mioclónica, debilidad muscular, ataxia, convulsiones generalizadas y miopatía mitocondrial con presencia de fibras rojo-rasgadas no reactivas a la citocromo c oxidasa. Además puede ir acompañada de demencia, sordera, neuropatía, atrofia óptica, fallo respiratorio, cardiomiopatía, y algunos pacientes tienen lipomas múltiples en cuello y tronco. Esta enfermedad puede aparecer tanto en la infancia como en adultos y es de curso progresivo. La mayoría de los casos (80%) están causados por la mutación m.8344A>G localizada en el gen del tRNA<sup>Lys</sup>, pero también se han encontrado otras mutaciones mas minoritarias en el mismo gen. Estas mutaciones están en heteroplasmia.

*Diabetes de herencia materna con sordera*

Además de la diabetes dependiente y no dependiente de insulina, se ha descrito recientemente un nuevo tipo, asociada a sordera, que no encuadra dentro de esta clasificación de la Organización Mundial de la Salud. Este tipo de diabetes, de herencia materna, representa aproximadamente un 1,5% de la población diabética total y está producida por la mutación m.3243A>G

en el gen del tRNA<sup>Leu(UUR)</sup>, la misma descrita para el síndrome de MELAS. Por otra parte, cabe mencionar que la diabetes suele acompañar a otros síndromes mitocondriales como MELAS, CPEO, Kearns-Sayre, Pearson y Wolfrang (DIDMOAD), etc.

### *Sordera neurosensorial*

La sordera neurosensorial es una de las manifestaciones clínicas secundarias comunes de varios síndromes mitocondriales. Sin embargo, este tipo de sordera aislada se ha asociado también a la presencia de varias mutaciones en el tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> del mtDNA en forma heteroplásmica pero con un porcentaje de la mutación que lo acerca a la homoplasmia, lo que indica que tienen un potencial patogénico relativamente bajo.

### *Sordera inducida por aminoglicósidos y sordera neurosensorial*

Además de las mutaciones en el tRNA<sup>Ser(UCN)</sup> descritas anteriormente, la sordera neurosensorial no sindrómica puede estar producida también por una mutación m.1555A>G localizada en el rRNA 12S mitocondrial. Asimismo, esta mutación es la causa de una sordera no sindrómica inducida por aminoglicósidos tales como estreptomycin, gentamicina y kanamicina. Estos antibióticos actúan sobre los ribosomas mitocondriales de la cóclea incrementando su unión al rRNA 12S y aumentando su susceptibilidad a producir defectos en la traducción.

### *Otras enfermedades asociadas a mutaciones puntuales en el DNA mitocondrial*

Existen otras presentaciones patológicas y mutaciones puntuales asociadas a otros diversos síndromes. Entre ellos podemos citar: el síndrome de intolerancia al ejercicio que se ha asociado a mutaciones en el gen codificante del citocromo b (55); cardiomiopatías de herencia materna relacionadas con mutaciones en el tRNA<sup>Ile</sup>; LHON y distonía; miopatías de herencia materna unidas a mutaciones en tRNA<sup>Leu</sup>, tRNA<sup>Pro</sup>, tRNA<sup>Asn</sup>, tRNA<sup>Tyr</sup>; anemia sideroblástica; deficiencia fatal de la cadena respiratoria infantil; necrosis bilateral del estriado, etc. Sin ninguna duda, el espectro de fenotipos relacionados con mutaciones en el mtDNA es muy amplio y se irán describiendo en el futuro.

## **2. Enfermedades causadas por deleciones del mtDNA**

Otro tipo de enfermedades producidas por defectos en el mtDNA se deben a la presencia de deleciones (pérdida de parte del mtDNA) (Tabla 2). Se han descrito numerosas deleciones distintas, si bien una de ellas, la deleción común de 4977 pares de bases, se encuentra mucho más frecuentemente. Este tipo de mutaciones provoca la pérdida de genes completos por lo que siempre

estarán presentes en heteroplasmia. Se ha descrito una variedad de síndromes clínicos relacionados con estas deleciones. Algunos se describen a continuación. Se desconoce el mecanismo molecular que produce estas deleciones, en la mayoría de los casos esporádicas (deleciones únicas), pero el que muy frecuentemente estén flanqueadas por repeticiones directas de longitud variable (3-13 nt), sugiere que se producen por errores en el proceso de replicación (56). También se han descrito casos de herencia materna y otros, con presencia de deleciones múltiples, que se deben a mutaciones en genes nucleares que afectan al metabolismo de nucleótidos mitocondriales. Se ha hecho un esfuerzo para relacionar el tamaño y lugar de localización de las deleciones con el fenotipo que padecen (57) pero no queda del todo claro.

#### *Síndrome de oftalmoplejía externa progresiva crónica (CPEO)*

Esta enfermedad, caracterizada fundamentalmente por oftalmoplejía, ptosis bilateral de los párpados y miopatía, suele ir acompañada de intolerancia al ejercicio y debilidad de las extremidades. La biopsia muscular de estos pacientes presentan fibras rojo-rasgadas COX negativas. Suele ser una enfermedad benigna que aparece en la adolescencia o en adultos jóvenes. En la mayor parte de los casos se ha asociado a deleciones grandes y únicas en mtDNA que aparecen de forma espontánea sin historia familiar. En particular, en nuestro laboratorio, un 60% de pacientes con CPEO presentan la deleción común. Asimismo, esta enfermedad se ha relacionado con deleciones múltiples de herencia autosómica recesiva o dominante y a mutaciones puntuales de herencia materna, incluida la mutación m.3243A>G causante de MELAS.

#### *Síndrome de Kearns-Sayre (KS)*

Muy relacionado con el anterior, es una enfermedad multisistémica progresiva caracterizada clínicamente por CPEO, retinopatía pigmentaria y bloqueo de la conducción cardíaca, que aparece antes de los 20 años de edad, y que va además acompañado de alguno de los siguientes síntomas: ataxia, miopatía mitocondrial, elevados niveles de proteína en LCR, sordera, demencia, fallos endocrinos y renales. La biopsia muscular muestra fibras rojo-rasgadas y COX negativas. Esta enfermedad está causada por la presencia de deleciones grandes únicas en el mtDNA de aparición espontánea, aunque también se ha asociado a deleciones múltiples (58).

#### *Síndrome de Pearson*

El síndrome de médula ósea-páncreas de Pearson es una enfermedad que aparece en los primeros años de vida y que afecta a la hematopoiesis y a la función pancreática exocrina. Los rasgos más comunes son anemia sideroblástica con vacuolización de precursores de la médula ósea que se manifiesta

con una anemia macrocítica, trombocitopenia y neutropenia. Los niños que la padecen suelen morir antes de los 3 años de vida y, los que sobreviven, gracias a numerosas transfusiones de sangre, suelen desarrollar más tarde un fenotipo de Kearns-Sayre. Está causado por deleciones grandes únicas del mtDNA de aparición esporádica.

#### *Otras enfermedades causadas por deleciones del ADNmt*

Se han asociado otros síndromes a la presencia de grandes deleciones únicas en el mtDNA como diabetes, sordera y atrofia óptica; miopatías en general; DIDMOAD (diabetes mellitus, diabetes insípida, atrofia óptica y sordera), y a deleciones múltiples: el síndrome de MNGIE (encefalomiopatía mitocondrial neurogastrointestinal); mioglobinuria recurrente, miositis con cuerpos de inclusión, etc.

### **3. Enfermedades causadas por depleción del mtDNA**

El genoma mitocondrial puede causar enfermedades, no por la presencia en su molécula de mutaciones propiamente dichas, sino por una disminución considerable de los niveles de mtDNA (depleción). Los síndromes de depleción mitocondrial (MDS) constituyen un grupo de enfermedades que son clínica y genéticamente muy heterogéneos, de aparición temprana, y que presentan una herencia autosómico recesiva. No se ha identificado ninguna mutación en el mtDNA que provoque esta disminución, lo que sugiere que están producidos por defectos en genes codificados en el DNA nuclear implicados en la maquinaria de mantenimiento del mtDNA (fallos de replicación o desequilibrio en los niveles de nucleótidos).

Actualmente, se distinguen tres tipos diferentes formas de presentación que afectan a tejidos específicos (músculo, cerebro, hígado) o a múltiples órganos como cerebro, corazón o riñón: miopática, encefalomiopática y hepatocerebral (59). Se considera que existe una depleción mitocondrial cuando los niveles de mtDNA están por debajo de 30% con respecto a controles emparejados por edad y sexo (60,61), pero, en los casos más graves y claros, se llega hasta valores por debajo de 5%. La mayoría de ellos mueren en su infancia temprana aunque algunos alcanzan hasta la pubertad e incluso mucho más (62). Se han asociado varios genes nucleares con el origen de las distintas formas de síndrome de depleción. Así, la forma *miopática* se ha asociado a mutaciones en el gen timidina kinasa- 2 (TK2), una desoxirribonucleósido kinasa específica de la mitocondria que fosforila timidina, desoxicitidina y desoxiuridina (63,64); la forma *encefalomiopática* al gen que codifica la subunidad b de la succinil-CoA sintasa formadora de ADP (SUCLA2) (65), un enzima de matriz mitocondrial que cataliza la síntesis reversible de succinil-CoA a partir de succinato y CoA; y la forma hepatocerebral al gen codificante

de desoxiguanosina kinasa (DGUOK) (66). Asimismo, el síndrome de Alpers se considera como una forma de síndrome de depleción que se ha asociado a mutaciones en los genes codificantes de desoxiguanosina kinasa (DGUOK) (66), DNA polimerasa  $\gamma$  (67), y MPV17 (68,69). Otros genes que causan síndrome de depleción son RRM2B, que codifica la subunidad pequeña de ribonucleótido reductasa inducible por el p53 citosólico (70), SUCLG1, que codifica la subunidad  $\alpha$  de la succinato-coenzima A ligasa, y PEO1, gen de la helicasa mitocondrial Twinkle (71,72).

#### **4. Nuevas mutaciones puntuales en el mtDNA y criterios de patogenicidad**

Dado el alto índice de mutación del mtDNA, la posibilidad de encontrar mutaciones puntuales es muy elevada, sin embargo, no todas serán patológicas ya que la mayoría representan polimorfismos neutros que se han fijado en la población y que definen haplogrupos determinados.

El número de mutaciones que se han descrito en el mtDNA es muy grande por lo que se podría pensar que se ha llegado al límite de cambios que puedan originar enfermedades. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente, el genoma mitocondrial presenta una alta tasa de mutación y, es muy posible que todavía puedan encontrarse otras muchas mutaciones patogénicas que estén relacionadas con síndromes específicos o con nuevos fenotipos. Además, debido a la alta variabilidad fenotípica, es probable que fenotipos muy suaves pasen desapercibidos (73). La probabilidad de detectar una nueva mutación ha aumentado con la posibilidad de la secuenciación completa del mtDNA de tamaño pequeño y con un coste asequible. En cualquier caso, no hay que olvidar que, tratándose del mtDNA, se debe secuenciar el DNA del tejido más afectado ya que no se puede descartar la presencia de mutaciones somáticas.

En todo caso, una nueva mutación en el mtDNA necesita cumplir una serie de criterios para que pueda ser considerada como patogénica. Esto no es una tarea fácil. Para ello, desde un inicio, se establecieron una serie de criterios, al principio muy sencillos y que luego se han ido ampliando o modificando. Sin embargo, no todas las mutaciones patogénicas llegan a cumplir todos y cada uno de estos criterios por lo que hay que ser extremadamente cuidadoso en su aplicación y tener una mente abierta a la hora de determinar como patogénica a una mutación, con el fin de que pueda avanzar la medicina mitocondrial (74). A continuación haremos una descripción de los mismos, si bien hay que dejar muy claro que no siempre una mutación patológica llega a cumplir todos ellos y, sin embargo, no puede descartarse su patogenicidad. Estos son:



*a) La mutación debe de estar presente en pacientes y ausente en individuos control.*

Una mutación patogénica no debe de encontrarse en individuos normales, sin embargo, hay muchas mutaciones claramente patológicas pero que presentan una penetrancia incompleta, por lo que pueden encontrarse en miembros sanos del mismo pedigrí en forma homoplásmica (LHON). Hoy en día se conocen mas de 30.000 secuencias del mtDNA, lo que representa un buen número para comprobar si la mutación ha sido descrita o no anteriormente. Asimismo, también podría ser cierto que mutaciones definidas en estudios poblacionales podrían ser potencialmente patológicas.

*b) La mutación debe de encontrarse en fondos genéticos diferentes.*

Este criterio implica una asociación independiente con el fenotipo y es imposible de cumplir en nuevas mutaciones.

*c) Existencia de correlación entre el porcentaje de la mutación y el fenotipo.*

El fenotipo de una célula heteroplásmica dependerá de la naturaleza de la mutación y del porcentaje de mtDNA mutado que tenga. Heteroplasmia no es necesariamente sinónimo de patogenicidad. Cualquier variante homoplásmica en el mtDNA ha atravesado un estado heteroplásmico antes de fijarse en la población como tal. Este criterio no es aplicable, lógicamente, a mutaciones homoplásmicas.

*d) La mutación debe de ser la mejor candidata a ser patogénica.*

Con la secuenciación completa del mtDNA es posible detectar varios cambios en su secuencia, por lo que habrá que discernir cual de todas es la patológica. A veces, se encuentran mutaciones nuevas y, si más o menos cumple los criterios antes mencionados, se dice que es patológica. Sin embargo, la posterior secuenciación de la molécula de mtDNA completa ha llevado al descubrimiento de otras mutaciones que pueden ser mejores candidatas. Además, aunque durante mucho tiempo se ha considerado que era imposible la coexistencia de más de una mutación patológica en el mismo mtDNA, ya se han descrito pacientes con dos mutaciones patológicas (75).

Por otro lado, es bastante habitual que se descarten como patológicas las mutaciones que se localizan en la región de control del mtDNA. En esta región se encuentran las secuencias que juegan un papel importantísimo en la regulación de la replicación y de la transcripción, aunque su función sea prácticamente desconocida. Asimismo, mutaciones sinónimas en los genes codificantes de proteínas, que no producen cambio de aminoácido, podrían alterar potenciales elementos de respuesta a las hormonas y afectar la regula-

ción de la expresión del genoma. Finalmente, es muy posible que alguno de los nucleótidos no codificantes de las regiones codificantes puedan afectar el procesamiento de los RNA policistrónicos que se originan a partir de las tres unidades de transcripción.

*e) La mutación debe afectar a nucleótidos muy conservados evolutivamente*

El grado de conservación de un nucleótido en el DNA depende, muy frecuentemente, de la importancia funcional que tenga la posición que ocupa. Por ello, es normal que una mutación patológica afecte a posiciones muy conservadas.

*f) La mutación debe afectar a dominios funcionales importantes de las proteínas*

Este punto es un poco consecuencia del anterior y tiene mucha importancia. Por ello es imprescindible el conocimiento de la estructura y función de las subunidades del sistema OXPHOS. Asimismo, la mutación puede afectar a dominios funcionales en los rRNAs o tRNAs con pérdida de su función.

*g) La transferencia de un mtDNA con una mutación a líneas celulares sin mtDNA, debe de ir acompañada de una transferencia del defecto molecular y/o celular: Construcción de híbridos transmitocondriales*

Con todos los inconvenientes descritos anteriormente, es fácil comprender que son necesarias pruebas funcionales directas para el establecimiento del carácter patogénico de una mutación. Hoy en día se considera que la mejor prueba para ver que una mutación es patológica, es la construcción de líneas celulares transmitocondriales. Estas consisten en la fusión de líneas celulares humanas con otro fondo nuclear, y a las que se ha eliminado su mtDNA (células rho 0), con plaquetas de un paciente que porten la mutación en el mtDNA a analizar (76,77). La transferencia del fenotipo funcional del paciente a estos híbridos representa la mejor evidencia de implicación del mtDNA mutado en la enfermedad. Esta técnica la utilizamos constantemente en nuestro laboratorio.

## **VII. ENFERMEDADES MITOCONDRIALES CAUSADAS POR MUTACIONES EN EL DNA NUCLEAR**

Como hemos citado, solamente trece de las proteínas componentes del sistema OXPHOS están codificadas en el mtDNA. El resto de subunidades proteicas, además de todos los factores implicados en su importe a la mitocondria, procesamiento, modificación y ensamblaje en los complejos, todos los enzimas y factores necesarios para el mantenimiento y expresión del genoma

mitocondrial, y todos los genes relacionados con la motilidad, fusión y fisión de la mitocondria, están codificados en el DNA nuclear. Por ello, cabe esperar que la mayoría de enfermedades mitocondriales se deban a mutaciones en este genoma y que se transmitan con un modo de herencia mendeliano.

En los últimos años, gracias a las nuevas tecnologías de secuenciación masiva del exoma y/o genoma completo, se han ido descubriendo numerosos genes y mutaciones que causan enfermedad mitocondrial (CITA). Asimismo, se han localizado mutaciones en genes nucleares que codifican proteínas que, de manera indirecta, influyen en la actividad de la cadena respiratoria.

Como hemos visto, las dificultades con las que nos encontramos en el campo de las enfermedades mitocondriales, son muchísimas, lo que hace que no se tenga todavía un gran conocimiento de los mecanismos patogénicos y que no exista prácticamente ninguna estrategia terapéutica.

### **VIII. TERAPIA DE LAS ENFERMEDADES MITOCONDRIALES**

No es fácil resumir en pocas palabras el desafío que supone el tratamiento terapéutico de las enfermedades mitocondriales puesto que, como se ha indicado, incluyen un heterogéneo grupo de fenotipos que abarcan todos los tipos de especialidades médicas. A esto cabe añadir que el conocimiento que se tiene sobre el sistema OXPHOS es todavía muy parcial y que pueden llegar a descubrirse nuevas e impredecibles funciones para estas proteínas. Por el momento, las enfermedades mitocondriales no tienen curación, pero esto no significa que no sea posible un tratamiento mediante una terapia paliativa. Por todo ello, las estrategias terapéuticas deben de ser muy diversas y específicas, siendo inconcebible que un “tratamiento mágico” pueda servir para tratar todas las enfermedades.

La mayoría de los tratamientos disponibles son solo sintomáticos y de apoyo. Estos incluyen una terapia sintomática, farmacológica o genética según el tipo de enfermedad. Así, los síntomas se pueden paliar con ejercicios físicos (ejercicio aeróbico), con fármacos (medicamentos antiepilépticos, hormonas) y quirúrgicos (blefaroplastia, implantes cocleares, eliminación de cataratas, trasplante cardíaco y hepático, gastrostomía endoscópica percutánea). El tratamiento farmacológico puede ser específico para signos particulares (tratamiento de la epilepsia, dolores de cabeza, síntomas extrapiramidales, episodios de accidentes cerebro-vasculares, o manifestaciones no neurológicas), o mas general, como antioxidantes (vitaminas E y C, coenzima Q, glutatión), aceptores y donadores de electrones (NADH y riboflavina), metabolitos y cofactores (coenzima Q10, carnitina, ácido fólico, tiamina y ácido lipoico). Asimismo deberían restringirse los fármacos de conocida toxicidad hacia las funciones

mitocondriales (aminoglicósidos, ácido valproico y aspirina). El tratamiento debe de ser individualizado por las características tan peculiares de la genética mitocondrial. A pesar de las posibilidades tan limitadas, se deben de ofrecer tratamientos sintomáticos, pues pueden tener un impacto sobre el curso y resultados de las enfermedades.

En cuanto a métodos genéticos, por el momento, las posibilidades van dirigidas más a prevenir la transmisión de mutaciones que a curar y habría que distinguir entre mutaciones en el mtDNA o en el DNA nuclear. Con respecto al primer caso, los problemas que plantea son muy importantes debido a la hetero-homoplasmia y porque no se ha podido introducir DNA en la mitocondria que se pueda heredar. Actualmente contamos con:

**Diagnóstico prenatal y consejo genético.** El diagnóstico prenatal y consejo genético de enfermedades causadas por defectos en el mtDNA de herencia materna, es muy complejo y arriesgado debido a las características de la genética mitocondrial (segregación mitótica, niveles de heteroplasmia, efecto umbral e influencia de factores genéticos y ambientales como modificadores fenotípicos). Cuando una madre posee un mtDNA en heteroplasmia, es imposible predecir qué porcentaje de las moléculas mutantes heredarán sus hijos y en qué porcentaje estará presente en cada uno de los tejidos. Así, puede darse que encontremos una madre portadora con una heteroplasmia, y que sus óvulos tengan un porcentaje de moléculas dañadas que puede ir del 0 al 100%. Según el óvulo que sea fecundado, la proporción de heteroplasmia variará. Por otro lado, las mitocondrias se distribuyen entre las células hijas, que derivan del cigoto, totalmente al azar, por lo que el porcentaje de moléculas mutadas variará en los tejidos que de ellas se forman. Por ello, aunque se transmita una mutación a los hijos, no se puede predecir si tendrán un fenotipo patológico. La presencia o ausencia de una mutación en vellosidades coriónicas y/o amniocitos, utilizadas para el diagnóstico prenatal, no permite deducir el porcentaje de la mutación en cerebro u otro tipo de tejidos del feto, por lo que es imposible predecir el padecimiento de la enfermedad. Por todo esto, con el estado actual de nuestros conocimientos, es desaconsejable realizar análisis prenatales.

**Diagnóstico pre-implantacional.** Consiste en el estudio del DNA de embriones humanos para seleccionar los que cumplen determinadas características y/o eliminar los que portan algún tipo de defecto congénito. De dichos embriones se extraen biopsias celulares cuyo tamaño puede variar según el número de días de desarrollo. Se realiza en tratamientos de fecundación in vitro, antes de implantar los preembriones humanos en el útero. Presentaría, en un principio, los mismos problemas indicados en el apartado anterior ya que el hecho de que una célula no contenga mutaciones en el mtDNA, no quiere decir que las otras no las tengan.

**Donación de óvulos.** Es el más sencillo, pues se fecundarían óvulos donadores con esperma del padre. Solo convendría asegurarse de que la donadora de óvulos no fuera portadora de mutaciones en el mtDNA.

**Transplante de núcleos en óvulos donadores (técnica de los tres padres).** Es la terapia de la línea germinal en las madres que portan una mutación en el ADNmt, mediante transferencia del núcleo a un oocito normal enucleado que contiene mitocondrias sanas. Esta técnica ha sido aprobada recientemente por el Parlamento Británico (78).

**Eliminación de mtDNA mutado en el interior de la mitocondria.** Este tipo de terapia incluye la inhibición de la replicación del mtDNA para el desplazamiento de la heteroplasmia hacia la normalidad. Para ello, se han ensayado métodos que consisten en la introducción de enzimas de restricción y/ TALEN en la mitocondria que reconozcan secuencias de mtDNA mutadas pero no las normales (79). De esta forma se podría eliminar el DNA mutado dejando solamente el sano. Esta técnica presenta el problema de que se puede crear una disminución de copias de mtDNA que pueden causar síndromes de depleción.

**Expresión alotópica.** Importe de tRNAs y de proteínas codificadas en el mtDNA cuyos genes codificantes se han introducido en el núcleo (expresión alotópica) con secuencias de dirección hacia la mitocondria (80).

**Técnicas de terapia celular.** Estas técnicas van dirigidas a tratar de curar a aquellas personas que ya tienen una enfermedad mitocondrial. La idea global es la de producir, a partir de los pacientes, células madre que carezcan de la mutación y reprogramarlas para que puedan desarrollar distintos tipos celulares. Estas células podrían transplantarse en los tejidos dañados de los pacientes y, teóricamente, curar la enfermedad (81). Esto se podría realizar de dos formas:

1. Obteniendo el núcleo de células de pacientes e implantándolos en óvulos humanos no fecundados, a los que se les retiró primero su núcleo pero manteniendo las mitocondrias. Posteriormente se estimula la división de estos óvulos, para obtener células madre embrionarias con mtDNA sano, que se podrían utilizar para producir distintos tipos celulares con el fin de sustituir a las células enfermas del paciente. Esta técnica es la misma que se utilizó para crear a la oveja Dolly con la gran diferencia de que no va destinada a producir un ser vivo sino células de diferentes tipos.
2. Tomado células de la piel de los pacientes con mutaciones en el mtDNA (estos pacientes suelen tener tanto células con moléculas de mtDNA dañado y sin dañar) y creando células madre pluripotentes, que contienen solamente mtDNA sano. A partir de las mismas se puede generar una

variedad de tipos celulares que posteriormente se podrían transplantar a los pacientes.

La ventaja de este segundo método es que no implica la utilización de óvulos y, por tanto, no presentaría los problemas éticos que conlleva su uso. En ambos casos, uno de los principales problemas a resolver, si todo sigue adelante, es cómo introducir estas células en los diferentes tejidos dañados en los pacientes (músculo, corazón, ojo, cerebro, etc).

Para las enfermedades mitocondriales causadas por mutaciones en genes nucleares que codifican proteínas mitocondriales, los mecanismos de diagnóstico, terapia y los problemas que generan, son similares a los de la terapia génica para otras enfermedades mendelianas. Se avanza muy despacio.

## **IX. EL DNA MITOCONDRIAL EN ANÁLISIS FORENSES**

El hecho de estar presente en un número de copias muy elevado, su alta velocidad de mutación, la ausencia de recombinación y la herencia materna, hacen que el mtDNA sea un instrumento muy valioso para análisis forenses. De este modo, se está utilizando de forma rutinaria en el análisis de huesos viejos, dientes, pelo y de otras muestras biológicas en las que la cantidad de DNA nuclear es muy baja. Su validez en análisis forenses, evolutivos y antropológicos está muy bien documentada y se ha utilizado con éxito en la identificación de los restos del Zar Nicolas II, de las víctimas del atentado terrorista contra el World Trade Center en Nueva York, de los desaparecidos de la dictadura Argentina, etc. [Budowle, 2003 #7323; Salas, 2006 #9212].

## **X. LA PATOLOGÍA MITOCONDRIAL EN ESPAÑA**

En 1988 se describieron las primeras mutaciones en el mtDNA. En 1990, y anticipando la importancia futura de este campo en la medicina, creamos en nuestro laboratorio de la Universidad de Zaragoza, la primera unidad en España de diagnóstico genético-molecular de enfermedades mitocondriales. Desde entonces, este servicio ha crecido mucho y, actualmente, se reciben muestras de diversos hospitales que abarcan una amplia zona geográfica de España, de Europa y de diversos países de América latina. En nuestro laboratorio se realiza el diagnóstico genético de rutina en patología mitocondrial, analizando las mutaciones más comunes asociadas a cada una de las enfermedades. Cuando los resultados son negativos y hay indicios de que se trata de una mitocondriopatía, se secuencian el mtDNA completo.

El hallazgo de una mutación nueva implica la determinación de su patogenicidad. Para ello, se procede a la utilización de modelos celulares con híbridos

transmitocondriales. Estas líneas celulares se construyen mediante fusión de células rho cero, que carecen de mtDNA, con plaquetas del paciente que portan mitocondrias con el mtDNA mutado. Después de una selección de las líneas de interés, se realizan estudios de medida de respiración, de actividades de los complejos del sistema de fosforilación oxidativa, de crecimiento, de síntesis de proteínas, etc., para ver si la presencia de la mutación ha originado un defecto celular. Una mutación en un gen codificante de proteínas suele crear líneas celulares con defectos en el complejo del cual forma parte el polipéptido mutado.

A pesar del gran avance conseguido en el diagnóstico de las mitocondriopatías durante estos 25 años, se conoce todavía muy poco sobre los mecanismos patogénéticos y menos aún sobre las terapias a emplear.

En estos años, nuestro servicio ha analizado mas de 3.400 muestras, entre pacientes y familiares relacionados por vía materna, y se ha encontrado que solamente alrededor de un 16% de los mismos presentan alguna de las mutaciones conocidas. Se trabaja intensamente en la búsqueda de nuevas mutaciones asociadas a enfermedades o nuevas enfermedades que puedan estar causadas por mutaciones en el mtDNA. Así, en nuestro laboratorio se han encontrado numerosas deleciones nuevas asociadas a los clásicos síndromes de CPEO, Kearns-Sayre y Pearson (56,57), y mutaciones puntuales nuevas como la T14487C asociada a necrosis bilateral del estriado y distonía, o mutaciones en el tRNA<sup>Lys</sup> asociadas a lipomatosis múltiple simétrica (82-84) o a otras enfermedades (17,46,51,52,54,57,58,73,74,84-103).

Los avances obtenidos al haber logrado secuenciar los genomas nucleares humanos y en las técnicas de secuenciación masiva, han permitido poder encontrar mutaciones en genes nucleares codificantes de proteínas mitocondriales. De nuevo, hay que demostrar la patogenicidad de las mismas y, para ello, se realizan transfección de fibroblastos del paciente con el gen wild-type y se analiza si se ha recuperado la función mitocondrial.

El apogeo de las enfermedades mitocondriales ha llevado a otros grupos en España a establecer otros centros de diagnóstico, fundamentalmente en Madrid y Barcelona. El año 2002, estos y otros centros se reunieron en una red temática de investigación cooperativa sobre enfermedades del sistema OXPHOS (Red Mitoespaña) con el fin de aunar esfuerzos, unificar protocolos de diagnóstico clínico, histoquímico, bioquímico y genético, y de, si es posible, enfrentar una terapia de las mismas. Hoy en día pertenecemos a uno de los CIBER del Instituto de Salud Carlos III, en particular al CIBER de Enfermedades Raras (CIBERER).

Además, desde finales de los años 90, se viene observando que la variación genética poblacional en el mtDNA es un factor importante en el desarrollo de las enfermedades multifactoriales asociadas a la edad, en la longevidad y,

recientemente, se están acumulando evidencias acerca del papel de las mutaciones en el mtDNA y el desarrollo del cáncer. Nuestro grupo también ha sido pionero en el desarrollo de este campo. Así, a mediados de los 90, se comenzó a estudiar la influencia de estos polimorfismos mitocondriales en distintos fenotipos y se pudo detectar que el haplogrupo T está sobre representado en la astenozoospermia moderada (104).

Nuestro trabajo de mas de 25 años en mitocondriopatías y fenotipos multifactoriales nos está permitiendo plantearnos retos más ambiciosos como la farmacogenómica mitocondrial y el sistema OXPHOS como diana farmacológica en las enfermedades multifactoriales y el cáncer (105).

## **XI. AGRADECIMIENTOS**

Es de justicia recordar en este momento a todos los colaboradores que, directa o indirectamente, han trabajado conmigo durante estos 32 años que llevo en la Universidad de Zaragoza. Con ellos he compartido ilusiones, penurias, resultados, alegría de las publicaciones, algún que otro sinsabor, etc. Ellos me han dado la oportunidad de aprender, al tiempo que lo hacían ellos, y de pasarlo bien. Muchos han seguido carrera investigadora y algunos están también en nuestra universidad.

No quiero acabar sin expresar un emocionado recuerdo a mi familia por haberme apoyado siempre en esta carrera que he seguido a pesar de que ello haya supuesto algún sacrificio para algunos.

A todas las madres porque, como se ha visto en la charla, son la fuente de toda nuestra energía.

Parte de los trabajos aquí descritos han sido subvencionados por el Instituto de Salud Carlos III-Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI14-00005), Diputación General de Aragón (Departamento de Ciencia, Tecnología y Universidad y Fondo Social Europeo). CIBERER es una iniciativa del Instituto de Salud Carlos III.

## **XII.- BIBLIOGRAFÍA**

- 1.- Cavalier-Smith T (1987) Eukaryotes with no mitochondria. *Nature* 326, 332-333.
- 2.- Attardi G, Schatz G (1988) Biogenesis of Mitochondria. *Ann. Rev. Cell Biol.* 4, 289-333.
- 3.- McBride HM, Neuspiel M, Wasiak S (2006) Mitochondria: more than just a powerhouse. *Curr Biol* 16, R551-560.
- 4.- Ephrussi B, Hottinguer H, Tavlitzki J (1949) Action de l'acriflavine sur les levures. II. Etude genetique du mutant "petite colonie". *Ann. Ins. Pasteur* 76, 351-367.



- 5.- Nass MMK, Nass S (1963) Intramitochondrial fibers with DNA characteristics. *J. Cell. Biol.* 19, 593-629.
- 6.- Hudson B, Vinograd J (1967) Catenated circular DNA molecules in HeLa cell mitochondria. *Nature* 216, 647-652.
- 7.- Attardi B, Attardi G (1967) A membrane-associated RNA of cytoplasmic origin in HeLa cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 58, 1051-1058.
- 8.- Attardi G, Attardi B (1968) Mitochondrial origin of membrane associated heterogeneous RNA in HeLa cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 61, 261-268.
- 9.- Attardi B, Cravioto B, Attardi G (1969) Membrane-bound ribosomes in HeLa cells. I. Their proportion to total cell ribosomes and their association with messenger RNA. *J Mol Biol* 44, 47-70.
- 10.- Lederman M, Attardi G (1970) In vitro protein synthesis in a mitochondrial fraction from HeLa cells: sensitivity to antibiotic and ethidium bromide. *Biochem Biophys Res Commun* 40, 1492-1500.
- 11.- Montoya J, Attardi G (1986) ADN Mitocondrial Humano. *Investigación y Ciencia* 118, 60-69.
- 12.- Chomyn A, Mariottini P, Cleeter MWJ, Ragan CI, Doolittle RF, Matsuno-Yagi A, Hatefi Y, Attardi G (1985) Functional assignment of the products of the unidentified reading frames o human mitochondrial DNA. En: (Eds) Functional assignment of the products of the unidentified reading frames o human mitochondrial DNA. Quagliariello E, Slater EC, Plamieri F, Saccone C, Kroon AM. Amsterdam Elsevier Sciences 259-275
- 13.- Wallace DC, Singh G, Lott MT, Hodge JA, Schurr TG, Lezza AMS, II LJE, Nikoskelainen EK (1988) Mitochondrial DNA mutation associated with Leber's hereditary optic neuropathy. *Science* 242, 1427-1430.
- 14.- Zeviani M, Moraes CT, DiMauro S, Nakase H, Bonilla E, Schon E, Rowland LP (1988) Deletions of mitochondrial DNA in Kearns-Sayre syndrome. *Neurology* 38, 1339-1346.
- 15.- Holt IJ, Cooper JM, Morgan-Hughes JA, Harding AE (1988) Deletions of muscle mitochondrial DNA. *Lancet* 1, 1462.
- 16.- Montoya J, Playan A, Solano A, Alcaine MJ, López- Pérez MJ, Pérez-Martos A (2000) [Diseases of mitochondrial DNA]. *Rev. Neurol.* 31, 324-333.
- 17.- Ruiz-Pesini E, López-Gallardo E, Dahmani Y, Herrero MD, Solano A, Díez-Sánchez C, López-Pérez M, Montoya J (2006) [Diseases of the human mitochondrial oxidative phosphorylation system.]. *Rev Neurol* 43, 416-424.
- 18.- Legros F, Malka F, Frachon P, Lombes A, Rojo M (2004) Organization and dynamics of human mitochondrial DNA. *J Cell Sci* 13, 2653-2662.
- 19.- Garrido N, Griparic L, Jokitalo E, Wartiovaara J, van der Bliek AM, Spelbrink JN (2003) Composition and dynamics of human mitochondrial nucleoids. *Mol Biol Cell* 14, 1583-1596.
- 20.- Robberson DL, Kasamatsu H, Vinograd J (1972) Replication of mitochondrial DNA. Circular replicative intermediates in mouse L cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69, 713-741.
- 21.- Kasamatsu H, Vinograd J (1974) Replication of circular DNA in eukaryotic cells. *Ann. Rev. Biochem.* 43, 695-719.

- 22.- Clayton DA (1982) Replication of animal mitochondrial DNA. *Cell* 28, 693-705.
- 23.- Bowmaker M, Yang MY, Yasukawa T, Reyes A, Jacobs HT, Huberman JA, Holt IJ (2003) Mammalian mitochondrial DNA replicates bidirectionally from an initiation zone. *J Biol Chem* 278, 50961-50969.
- 24.- Yasukawa T, Yang MY, Jacobs HT, Holt IJ (2005) A bidirectional origin of replication maps to the major noncoding region of human mitochondrial DNA. *Mol Cell* 18, 651-662.
- 25.- Ojala D, Montoya J, Attardi G (1980) The Putative mRNA per Subunit II of Human Cytochrome c Oxidase Starts Directly at the translation initiation codon. *Nature* 287, 79-82.
- 26.- Ojala D, Merkel C, Gelfand R, Attardi G (1980) The tRNA genes punctuate the reading of genetic information in human mitochondrial DNA. *Cell* 22, 393-403.
- 27.- Ojala D, Montoya J, Attardi G (1981) tRNA punctuation model of RNA processing in human mitochondria. *Nature* 290, 470-474.
- 28.- Montoya J, Ojala D, Attardi G (1981) Distinctive features of the 5'-terminal sequences of the human mitochondrial mRNAs. *Nature* 290, 465-470.
- 29.- Montoya J, Christianson T, Levens D, Rabinowitz M, Attardi G (1982) Identification of Initiation Sites for Heavy Strand and Light Strand Transcription in Human Mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 79, 7195-7199.
- 30.- Montoya J, Gaines GL, Attardi G (1983) The Pattern of Transcription of the Human Mitochondrial rRNA Genes Reveals Two Overlapping Transcription Units. *Cell* 34, 151-159.
- 31.- Montoya J, Lopez-Perez MJ, Ruiz-Pesini E (2006) Mitochondrial DNA transcription and diseases: Past, present and future. *Biochim Biophys Acta* 1757, 1179-1189.
- 32.- Kruse B, Narasimhan N, Attardi G (1989) Termination of transcription in human mitochondria: identification and purification of a DNA binding protein factor that promotes termination. *Cell* 58, 391-397.
- 33.- Daga A, Micol V, Hess D, Aebersold R, Attardi G (1993) Molecular Characterization of the Transcription Termination Factor from Human Mitochondria. *J Biol Chem* 268, 8123-8130.
- 34.- Fernandez-Silva P, Martinez-Azorin F, Micol V, Attardi G (1997) The human mitochondrial transcription termination factor (mTERF) is a multizipper protein but binds to DNA as a monomer, with evidence pointing to intramolecular leucine zipper interactions. *EMBO J* 16, 1066-1079.
- 35.- Prieto-Martin A, Montoya J, Martinez-Azorin F (2004) Phosphorylation of rat mitochondrial transcription termination factor (mTERF) is required for transcription termination but not for binding to DNA. *Nucleic Acids Res* 32, 2059-2068.
- 36.- Martin M, Cho J, Cesare AJ, Griffith JD, Attardi G (2005) Termination Factor-Mediated DNA Loop between Termination and Initiation Sites Drives Mitochondrial rRNA Synthesis. *Cell* 123, 1227-1240.
- 37.- Tiranti V, Savoia A, Forti F, D'Apollito MF, Centra M, Racchi M, Zeviani M (1997) Identification of the gene encoding the human mitochondrial RNA polymerase (h-mtRPOL) by cyberscreening of the expressed sequence tags database. *Hum Mol Genet* 6, 615-625.

- 38.- Prieto-Martín A, Montoya J, Martínez-Azorín F (2001) A study on the human mitochondrial RNA polymerase activity points to existence of a transcription factor B-like protein. *Febs Lett* 503, 51-55.
- 39.- Fisher RP, Clayton DA (1985) A transcription factor required for promoter recognition by human mitochondrial RNA polymerase. *J Biol Chem* 260, 11330-11338.
- 40.- Falkenberg M, Gaspari M, Rantanen A, Trifunovic A, Larsson NG, Gustafsson CM (2002) Mitochondrial transcription factors B1 and B2 activate transcription of human mtDNA. *Nat Genet* 31, 289-294.
- 41.- Dubin DT, Montoya J, Timko KD, Attardi G (1982) Sequence Analysis and Precise Mapping of the 3'-ends of HeLa Cell Mitochondrial Ribosomal RNAs. *J. Mol. Biol.* 157, 1-19.
- 42.- Prieto-Martín A, Montoya J, Martínez-Azorín F (2004) New DNA-Binding Activity of Rat Mitochondrial Transcription Termination Factor (mTERF). *J Biochem (Tokyo)* 136, 825-830.
- 43.- Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC (1980) Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 77, 6715-6719.
- 44.- Sutovsky P, Neuber E, Schatten G (2002) Ubiquitin-dependent sperm quality control mechanism recognizes spermatozoa with DNA defects as revealed by dual ubiquitin-TUNEL assay. *Mol Reprod Dev* 61, 406-413.
- 45.- DiMauro S, Hirano M, Schon EA. Mitochondrial Medicine. Informa Health Care. Abingdon, Oxon. UK. 2006 348
- 46.- Pineda M, Ormazabal A, Lopez-Gallardo E, Nascimento A, Solano A, Herrero MD, Vilaseca MA, Briones P, Ibanez L, Montoya J, Artuch R (2006) Cerebral folate deficiency and leukoencephalopathy caused by a mitochondrial DNA deletion. *Ann Neurol* 59, 394-398.
- 47.- Garcia-Cazorla A, Quadros EV, Nascimento A, Garcia-Silva MT, Briones P, Montoya J, Ormazabal A, Artuch R, Sequeira JM, Blau N, Arenas J, Pineda M, Ramaekers VT (2008) Mitochondrial diseases associated with cerebral folate deficiency. *Neurology* 70, 1360-1362.
- 48.- Schagger H, von Jagow G (1991) Blue native electrophoresis for isolation of membrane protein complexes in enzymatically active form. *Anal Biochem* 199, 223-231.
- 49.- DiMauro S, Schon EA (2008) Mitochondrial Disorders in the Nervous System. *Annu Rev Neurosci* 31, 91-123.
- 50.- Montoya J, Emperador S, Lopez-Gallardo E, Ruiz-Pesini E (2014) Diagnóstico genético de enfermedades metabólicas producidas por alteración del ADN mitocondrial. En: (Eds) Diagnóstico y tratamiento de las enfermedades metabólicas hereditarias. Sanjurjo P, Baldellou A. Madrid Ergon. Pg. 771-790.
- 51.- Martínez-Romero I, Herrero-Martín MD, Llobet L, Emperador S, Martín-Navarro A, Narberhaus B, Ascaso FJ, Lopez-Gallardo E, Montoya J, Ruiz-Pesini E (2014) New MT-ND1 pathologic mutation for Leber hereditary optic neuropathy. *Clin Experiment Ophthalmol*
- 52.- Lopez-Gallardo E, Emperador S, Solano A, Llobet L, Martín-Navarro A, Lopez-Perez MJ, Briones P, Pineda M, Artuch R, Barraquer E, Jerico I, Ruiz-Pesini E, Montoya

J (2014) Expanding the clinical phenotypes of MT-ATP6 mutations. *Hum Mol Genet* 23, 6191-6200.

53.- Giordano C, Iommarini L, Giordano L, Maresca A, Pisano A, Valentino ML, Caporali L, Liguori R, Deceglie S, Roberti M, Fanelli F, Fracasso F, Ross-Cisneros FN, D'Adamo P, Hudson G, Pyle A, Yu-Wai-Man P, Chinnery PF, Zeviani M, Salomao SR, Berezovsky A, Belfort R, Jr., Ventura DF, Moraes M, Moraes Filho M, Barboni P, Sadun F, De Negri A, Sadun AA, Tancredi A, Mancini M, d'Amati G, Loguercio Polosa P, Cantatore P, Carelli V (2014) Efficient mitochondrial biogenesis drives incomplete penetrance in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* 137, 335-353.

54.- Bianco A, Martinez-Romero I, Bisceglia L, D'Agruma L, Favia P, Ruiz-Pesini E, Guerriero S, Montoya J, Petruzzella V (2015) Mitochondrial DNA copy number differentiates the Leber's hereditary optic neuropathy affected individuals from the unaffected mutation carriers. *Brain* In press,

55.- Andreu AL, Hanna MG, Reichmann H, Bruno C, Penn AS, Tanji K, Pallotti F, Iwata S, Bonilla E, Lach B, MorganHughes J, DiMauro S (1999) Exercise intolerance due to mutations in the cytochrome b gene of mitochondrial DNA. *N Engl J Med* 341, 1037-1044.

56.- Solano A, Gamez J, Carod FJ, Pineda M, Playan A, Lopez-Gallardo E, Andreu AL, Montoya J (2003) Characterisation of repeat and palindrome elements in patients harbouring single deletions of mitochondrial DNA. *J Med Genet* 40, e86.

57.- Lopez-Gallardo E, Lopez-Perez MJ, Montoya J, Ruiz-Pesini E (2009) CPEO and KSS differ in the percentage and location of the mtDNA deletion. *Mitochondrion* 9, 314-317.

58.- Ascaso FJ, Lopez-Gallardo E, Del Prado E, Ruiz-Pesini E, Montoya J (2010) Macular lesion resembling adult-onset vitelliform macular dystrophy in Kearns-Sayre syndrome with multiple mtDNA deletions. *Clin Experiment Ophthalmol* 38, 812-816.

59.- Elpeleg O (2003) Inherited Mitochondrial DNA Depletion. *Pediatr Res* 54, 1-7.

60.- Vu TH, Sciacco M, Tanji K, Nichter C, Bonilla E, Chatkupt S, Maertens P, Shanske S, Mendell J, Koenigsberger MR, Sharer L, Schon EA, DiMauro S, DeVivo DC (1998) Clinical manifestations of mitochondrial DNA depletion. *Neurology* 50, 1783-1790.

61.- Morten KJ, Ashley N, Wijburg F, Hadzic N, Parr J, Jayawant S, Adams S, Bindoff L, Bakker HD, Mieli-Vergani G, Zeviani M, Poulton J (2007) Liver mtDNA content increases during development: A comparison of methods and the importance of age- and tissue-specific controls for the diagnosis of mtDNA depletion. *Mitochondrion* 7, 386-395.

62.- Lee NC, Dimmock D, Hwu WL, Tang LY, Huang WC, Chinault AC, Wong LJ (2009) Simultaneous detection of mitochondrial DNA depletion and single-exon deletion in the deoxyguanosine gene using array-based comparative genomic hybridisation. *Arch Dis Child* 94, 55-58.

63.- Saada A, Shaag A, Mandel H, Nevo Y, Eriksson S, Elpeleg O (2001) Mutant mitochondrial thymidine kinase in mitochondrial DNA depletion myopathy. *Nat Genet* 29, 342-344.

64.- Mancuso M, Salviati L, Sacconi S, Otaegui D, Camano P, Marina A, Bacman S, Moraes CT, Carlo JR, Garcia M, GarciaAlvarez M, Monzon L, Naini AB, Hirano M, Bonilla E, Taratuto AL, DiMauro S, Vu TH (2002) Mitochondrial DNA depletion - Mutations in thymidine kinase gene with myopathy and SMA. *Neurology* 59, 1197-1202.

- 65.- Elpeleg O, Miller C, Hershkovitz E, Bitner-Glindzicz M, Bondi-Rubinstein G, Rahman S, Pagnamenta A, Eshhar S, Saada A (2005) Deficiency of the ADP-Forming Succinyl-CoA Synthase Activity Is Associated with Encephalomyopathy and Mitochondrial DNA Depletion. *Am J Hum Genet* 76, 1081-1086.
- 66.- Mandel H, Hartman C, Berkowitz D, Elpeleg ON, Manov I, Iancu TC (2001) The hepatic mitochondrial DNA depletion syndrome: Ultrastructural changes in liver biopsies. *Hepatology* 34, 776-784.
- 67.- Naviaux RK, Nguyen KV (2004) POLG mutations associated with Alpers' syndrome and mitochondrial DNA depletion. *Ann Neurol* 55, 706-712.
- 68.- Calvo S, Jain M, Xie X, Sheth SA, Chang B, Goldberger OA, Spinazzola A, Zeviani M, Carr SA, Mootha VK (2006) Systematic identification of human mitochondrial disease genes through integrative genomics. *Nat Genet* 38, 576-582.
- 69.- Spinazzola A, Viscomi C, Fernandez-Vizarra E, Carrara F, D'Adamo P, Calvo S, Marsano RM, Donnini C, Weiher H, Strisciuglio P, Parini R, Sarzi E, Chan A, Dimauro S, Rotig A, Gasparini P, Ferrero I, Mootha VK, Tiranti V, Zeviani M (2006) MPV17 encodes an inner mitochondrial membrane protein and is mutated in infantile hepatic mitochondrial DNA depletion. *Nat Genet* 38, 570-575.
- 70.- Bourdon A, Minai L, Serre V, Jais JP, Sarzi E, Aubert S, Chretien D, de Lonlay P, Paquis-Flucklinger V, Arakawa H, Nakamura Y, Munnich A, Rotig A (2007) Mutation of RRM2B, encoding p53-controlled ribonucleotide reductase (p53R2), causes severe mitochondrial DNA depletion. *Nat Genet* 39, 776-780.
- 71.- Hakonen AH, Isohanni P, Paetau A, Herva R, Suomalainen A, Lonnqvist T (2007) Recessive Twinkle mutations in early onset encephalopathy with mtDNA depletion. *Brain* 130, 3032-3040.
- 72.- Sarzi E, Goffart S, Serre V, Chretien D, Slama A, Munnich A, Spelbrink JN, Rotig A (2007) Twinkle helicase (PEO1) gene mutation causes mitochondrial DNA depletion. *Ann Neurol* 62, 579-587.
- 73.- Herrero-Martin MD, Pineda M, Briones P, Lopez-Gallardo E, Carreras M, Benac M, Angel Idoate M, Vilaseca MA, Artuch R, Lopez-Perez MJ, Ruiz-Pesini E, Montoya J (2008) A new pathologic mitochondrial DNA mutation in the cytochrome oxidase subunit I (MT-CO1). *Hum Mutat* 29, E103-E111.
- 74.- Montoya J, Lopez-Gallardo E, Diez-Sanchez C, Lopez-Perez MJ, Ruiz-Pesini E (2009) 20 years of human mtDNA pathologic point mutations: Carefully reading the pathogenicity criteria. *Biochim Biophys Acta* 1787, 476-483.
- 75.- Brown MD, Allen JC, Van Stavern GP, Newman NJ, Wallace DC (2001) Clinical, genetic, and biochemical characterization of a Leber hereditary optic neuropathy family containing both the 11778 and 14484 primary mutations. *Am J Med Genet* 104, 331-338.
- 76.- King MP, Attardi G (1988) Injection of mitochondria in human cells leads to a rapid replacement of the endogenous mitochondrial DNA. *Cell* 52, 811-819.
- 77.- King MP, Attardi G (1989) Human cells lacking mtDNA: repopulation with exogenous mitochondria by complementation. *Science* 246, 500-503.
- 78.- Chinnery PF, Craven L, Mitalipov S, Stewart JB, Herbert M, Turnbull DM (2014) The challenges of mitochondrial replacement. *PLoS Genet* 10, e1004315.

79.- Reddy P, Ocampo A, Suzuki K, Luo J, Bacman SR, Williams SL, Sugawara A, Okamura D, Tsunekawa Y, Wu J, Lam D, Xiong X, Montserrat N, Esteban CR, Liu GH, Sancho-Martinez I, Manau D, Civico S, Cardellach F, Del Mar O'Callaghan M, Campistol J, Zhao H, Campistol JM, Moraes CT, Izpisua Belmonte JC (2015) Selective elimination of mitochondrial mutations in the germline by genome editing. *Cell* 161, 459-469.

80.- Perales-Clemente E, Fernandez-Silva P, Acin-Perez R, Perez-Martos A, Enriquez JA (2011) Allotopic expression of mitochondrial-encoded genes in mammals: achieved goal, undemonstrated mechanism or impossible task? *Nucleic Acids Res* 39, 225-234.

81.- Ma H, Folmes CD, Wu J, Morey R, Mora-Castilla S, Ocampo A, Ma L, Poulton J, Wang X, Ahmed R, Kang E, Lee Y, Hayama T, Li Y, Van Dyken C, Gutierrez NM, Tippner-Hedges R, Koski A, Mitalipov N, Amato P, Wolf DP, Huang T, Terzic A, Laurent LC, Belmonte JC, Mitalipov S (2015) Metabolic rescue in pluripotent cells from patients with mtDNA disease. *Nature*

82.- Gamez J, Playan A, Andreu AL, Bruno C, Navarro C, Cervera C, Arbós MA, Schwartz S, Enriquez JA, Montoya J (1998) Familial multiple symmetric lipomatosis associated with the A8344G mutation of mitochondrial DNA. *Neurology* 51, 258-260.

83.- Solano A, Roig M, Vives-Bauza C, Hernandez-Pena J, Garcia-Arumi E, Playan A, Lopez-Perez MJ, Andreu AL, Montoya J (2003) Bilateral striatal necrosis associated with a novel mutation in the mitochondrial ND6 gene. *Ann Neurol* 54, 527-530.

84.- Pineda M, Solano A, Artuch R, Andreu AL, Playan A, Vilaseca MA, Colomer J, Briones P, Casademont J, Montoya J (2004) Peripheral Neuropathy with Ataxia in Childhood as a Result of the G8363A Mutation in Mitochondrial DNA. *Pediatr Res* 56, 55-59.

85.- Montero R, Sanchez-Alcazar JA, Briones P, Navarro-Sastre A, Gallardo E, Bornstein B, Herrero-Martin D, Rivera H, Martin MA, Marti R, Garcia-Cazorla A, Montoya J, Navas P, Artuch R (2009) Coenzyme Q(10) deficiency associated with a mitochondrial DNA depletion syndrome: A case report. *Clin Biochem* 42, 742-745.

86.- Lopez-Gallardo E, Solano A, Herrero-Martin MD, Martinez-Romero I, Castano-Perez MD, Andreu AL, Herrera A, Lopez-Perez MJ, Ruiz-Pesini E, Montoya J (2009) NARP syndrome in a patient harbouring an insertion in the MT-ATP6 gene that results in a truncated protein. *J Med Genet* 46, 64-67.

87.- Garcia-Cazorla A, Duarte S, Serrano M, Nascimento A, Ormazabal A, Carrilho I, Briones P, Montoya J, Garesse R, Sala-Castellvi P, Pineda M, Artuch R (2008) Mitochondrial diseases mimicking neurotransmitter defects. *Mitochondrion* 8, 273-278.

88.- Montero R, Artuch R, Briones P, Nascimento A, Garcia-Cazorla A, Vilaseca MA, Sanchez-Alcazar JA, Navas P, Montoya J, Pineda M (2007) Diagnosis of paediatric patients with coenzyme Q10 deficiency. *J. Inher, Metab. Dis* 30, 73-73.

89.- Ayuso T, Tuñón MT, Montoya J, Lacruz F, Herrero MD, Echavarri C, Ruiz E (2006) Mutación mitocondrial inhabitual en pacientes con fenotipo MELAS. *Neurología* 21, 650-651.

90.- Carod-Artal FJ, Lopez-Gallardo E, Solano A, Dahmani Y, Ruiz-Pesini E, Montoya J (2006) [Deletions of the mitochondrial DNA associated to chronic progressive external ophthalmoplegia with ragged-red fibers in 2 Brazilian patients.]. *Med Clin (Barc)* 126, 457-460.

91.- Perez M, Barrena R, Montoya J, Marta E (2006) [Evolution until death of two members of a family with A3243G mutation and MELAS phenotype versus diabetes mellitus.]. *Neurologia* 21, 327-332.

92.- Carod-Artal F, Lopez Gallardo E, Solano A, Dahmani Y, Herrero M, Montoya J (2006) [Mitochondrial DNA deletions in Kearns-Sayre syndrome.]. *Neurologia* 21, 357-364.

93.- Navarro-Sastre A, Playan A, Lopez-Gallardo E, Montoya J, Yanes L, Ruiz-Pons M, Campistol J, Pineda M, Vilaseca MA, Briones P, Ribes A (2004) Screening for mutations in DGUOK in patients with mitochondrial DNA depletion. *J Inher Metab Dis.* 27(S1), 117-117.

94.- Pineda M, Playan-Arison A, Alcaine-Villarroya MJ, Vernet AM, Serra-Castanera A, Solano A, Vilaseca MA, Artuch R, Lopez-Perez M, Briones-Godino MP, Andreu A, Montoya J (2004) [Familiar chronic progressive external ophthalmoplegia of mitochondrial origin]. *Rev Neurol* 38, 1023-1027.

95.- Raspall-Chaure M, Solano A, Vazquez E, Macaya-Ruiz A, Del Toro-Riera M, Cabezuelo-Briones A, Montoya J, Andreu A, Roig-Quilis M (2004) [A patient with bilateral lesion in the striatum and slowly progressive dystonia secondary to T14487C mutation in the ND6 gene of complex I of the mitochondrial respiratory chain.]. *Rev Neurol* 39, 1129-1132.

96.- Mancuso M, Vives-Bauza C, Filosto M, Marti R, Solano A, Montoya J, Gamez J, DiMauro S, Andreu AL (2004) A mitochondrial DNA duplication as a marker of skeletal muscle specific mutations in the mitochondrial genome. *J Med Genet* 41, E73.

97.- Solano A, Russo G, Playan A, Parisi M, DiPietro M, Scuderi A, Palumbo M, Renis M, Lopez-Perez MJ, Andreu AL, Montoya J (2004) De Toni-Debre-Fanconi syndrome due to a palindrome-flanked deletion in mitochondrial DNA. *Pediatr Nephrol* 19, 790-793.

98.- Gutierrez A, Saldana-Martinez A, Garcia-Ramirez R, Rayo-Mares D, Carreras M, Lopez-Perez MJ, Ruiz-Pesini E, Montoya J, Montiel-Sosa JF (2009) [Leigh syndrome caused by the mitochondrial DNA G14459A mutation in a Mexican family.]. *Rev Neurol* 49, 248-250.

99.- Herrero-Martin MD, Ayuso T, Tunon MT, Martin MA, Ruiz-Pesini E, Montoya J (2010) A MELAS/MERRF phenotype associated with the mitochondrial DNA 5521G>A mutation. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 81, 471-472.

100.- Serrano M, Garcia-Silva MT, Martin-Hernandez E, O'Callaghan MD, Quijada P, Martinez-Aragon A, Ormazabal A, Blazquez A, Martin MA, Briones P, Lopez-Gallardo E, Ruiz-Pesini E, Montoya J, Artuch R, Pineda M (2010) Kearns-Sayre syndrome: cerebral folate deficiency, MRI findings and new cerebrospinal fluid biochemical features. *Mitochondrion* 10, 429-432.

101.- Marti R, Nascimento A, Colomer J, Lara MC, Lopez-Gallardo E, Ruiz-Pesini E, Montoya J, Andreu AL, Briones P, Pineda M (2010) Hearing loss in a patient with the myopathic form of mitochondrial DNA depletion syndrome and a novel mutation in the TK2 gene. *Pediatr Res* 68, 151-154.

102.- Cammarata-Scalisi F, Lopez-Gallardo E, Emperador S, Ruiz-Pesini E, Da Silva G, Camacho N, Montoya J (2011) [Pearson syndrome. Case report]. *Invest Clin* 52, 261-267.

103.- O'Callaghan MM, Emperador S, Pineda M, Lopez-Gallardo E, Montero R, Yubero D, Jou C, Jimenez-Mallebrera C, Nascimento A, Ferrer I, Garcia-Cazorla A, Ruiz-Pesini E, Montoya J, Artuch R (2015) Mutation loads in different tissues from six pathogenic mtDNA point mutations. *Mitochondrion* 22, 17-22.

104.- Ruiz-Pesini E, Lapeña AC, Diez-Sanchez C, Perez-Martos A, Montoya J, Alvarez E, Diaz M, Urries A, Montoro L, Lopez-Perez MJ, Enriquez JA (2000) Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am J Hum Genet* 67, 682-696.

105.- Pacheu-Grau D, Gomez-Duran A, Lopez-Perez MJ, Montoya J, Ruiz-Pesini E (2010) Mitochondrial pharmacogenomics: barcode for antibiotic therapy. *Drug Discov Today* 15, 33-39.



SESIÓN CIENTÍFICA CONJUNTA DE  
LA REAL ACADEMIA DE MEDICINA Y  
ASOCIACIÓN DE TERMAS ARAGONESAS  
DEL DÍA 19 DE NOVIEMBRE DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

DESCUBRE LO QUE TE OFRECEN  
LOS BALNEARIOS ARAGONESES

POR EL  
DR. D. JOAQUÍN GUILLÉN MATEO  
MÉDICO HIDRÓLOGO.  
DIRECTOR MÉDICO DE LOS BALNEARIOS  
DE SICILIA Y SERÓN DE JARABA.

ÚLTIMOS AVANCES EN HIDROLOGÍA MÉDICA

POR EL  
DR. D. ANTONIO HERNÁNDEZ TORRES  
MÉDICO HIDRÓLOGO.  
CIENTÍFICO TITULAR (AETS) INSTITUTO DE SALUD “CARLOS III”.

PRESENTADO POR EL  
ILMO. SR. D. FRANCISCO JOSÉ GAUDÓ GAUDÓ  
ACADÉMICO DE NÚMERO



## **PRESENTACIÓN DEL DR. HERNÁNDEZ TORRES POR EL DR. GAUDÓ**

Excelentísimo Señor Presidente  
Ilustrísimos Señoras y Señores Académicos  
Señoras y Señores

Hace muchos años en un curso de hidrogeología en Madrid, un profesor me preguntó de dónde era. Al decirle que era de Zaragoza, me preguntó por qué los aragoneses estábamos siempre tan interesados por el agua. Esto es así, y en ésta Academia siempre se ha escuchado con atención cualquier conferencia sobre el tema del agua. Hoy la vamos a dedicar a las aguas Minero-medicinales y a los balnearios.

El año que finalicé la Licenciatura en Medicina, el Profesor D. Francisco Marín Górriz me pidió que realizase un trabajo sobre balnearios y empecé por visitar el Balneario Sicilia, en Jaraba. Me atendió el médico director, Dr. D. Javier Sada, quien me comentó que existía la especialidad de Hidrología Médica, que se realizaba por Escuela Profesional en Madrid (hoy en día por vía MIR) y que se podía hacer viajando, ya que eran dos cursos y las clases se impartían por las tardes, tres días a la semana, más las correspondientes prácticas posteriores.

Al día siguiente se lo comuniqué al Dr. D. Francisco Marín, quien me animó a estudiar la Especialidad.

Los profesores de la escuela eran excepcionales. El Dr. Don Manuel Armijo Valenzuela que fue Académico de Honor de ésta Real Academia y la Dra. Dña. Josefina San Martín Bacaicoa, también catedrática. La especialidad constaba de dos cursos: uno de Hidrología Médica (balneoterapia) y otro de Hidroterapia (rehabilitación en el agua). Además se realizaban prácticas de análisis de aguas: organolépticos, fisicoquímicos y bacteriológicos, que acreditaban poder realizar estos tipos de análisis.

El hecho de poder estudiar una especialidad sobre el agua de tanto interés en Aragón, como he comentado, poder especializarme en rehabilitación, por cuestiones personales y la circunstancia de que entonces me dedicaba al ejercicio libre de la profesión de Ingeniero y que era de los pocos que me había in-

corporado a la informática, pudiendo realizar proyectos con medios de los que otros no disponían (era el año 1985 y dispuse de ordenador desde 1979), me otorgaba tiempo suficiente para estudiar la especialidad, por lo que acepté de inmediato dicha posibilidad. Además, volver a estudiar en Madrid, me atraía.

Empezaron las clases en Octubre de 1985 y allí tuve como condiscípulo al Dr. D. Antonio Hernández Torres, nuestro conferenciante del día de hoy.

La sorpresa fue que el Dr. Hernández era también un profesional de la informática y los ordenadores personales, ya que en aquel momento, era funcionario en Sanidad como Analista de Sistemas Informáticos. Esto dio como consecuencia que comenzase una amistad basada en estos conocimientos de informática, con conversaciones y cambios de programas informáticos.

La especialidad de Hidrología Médica y sus médicos hidrólogos, sustituyeron parcialmente al Cuerpo de Médicos inspectores de Establecimientos Balnearios, título que se obtenía por oposición, siendo muy valorado, ya que suponía, después de jubilarse, la posibilidad de continuar con un trabajo en los balnearios, durante los meses de verano y al mismo tiempo una actividad muy agradable ya que el médico titular del balneario era especialmente querido y apreciado por los bañistas. Muchos miembros en la historia de ésta Academia pertenecieron a dicho cuerpo.

Hace tiempo que quería invitar al Dr. Hernández Torres, para que nos pusiese al día de los últimos avances en Hidrología Médica. Por otra parte, también queríamos ponernos al corriente de los actuales tratamientos en los Balnearios, por lo que hemos organizado, en el día de hoy, una conferencia previa, en la que el Dr. D. Joaquín Guillén nos ha presentado los actuales tratamientos en nuestros balnearios aragoneses.

El Dr. Hernández Torres empieza a estudiar Medicina, con conocimientos previos de informática. En 1976 el INSALUD convoca unas oposiciones de la de Escala Informática, que gana, a los 19 años, destinándole al Servicio de Informática Médica del Hospital Ramón y Cajal de Madrid y accediendo, un año después, a la Jefatura de Grupo en turno de tarde, por lo que puede compaginar el trabajo con sus estudios de Medicina.

Ya en su tesina de licenciatura presenta una revisión de 30.000 casos comparativos entre la enfermedad de Südeck y la algodistrofia simpático refleja, y el tribunal no se lo cree y tiene que demostrarles que él tiene a su disposición grandes ordenadores, que sabe manejar, organizando y tratando sus datos.

Por cuestiones de compatibilizar trabajo y estudio, comienza la especialidad de Hidrología Médica y es el único funcionario del Ministerio de Sanidad y Consumo con dicha especialidad, por lo que en 1987 es trasladado a la D.G. de Planificación Sanitaria del Ministerio de Sanidad, asesorando al Gabinete del

Ministro García Vargas, en temas como la liquidación de la Caja de Pensiones del cuerpo de Inspectores de Balnearios del Estado, enmiendas parlamentarias, implantación del Programa de Termalismo Social del IMSERSO y asesoramiento a las Consejerías de Sanidad de las CC.AA. en materias de Hidrología Médica, que han sido trasferidas.

Posteriormente se presenta y gana la oposición de médico de la AISNA (Administración Institucional de la Sanidad Nacional) en el Instituto de Salud Carlos III, donde, a los 32 años, ocupa una Jefatura de Servicio en la Subd. Gral. de Investigación, integrándose en el Cuerpo Superior de Sistemas y Tecnologías de la Información, con destino en 1994 en la Agencia de Evaluación de Tecnologías Sanitarias en el Instituto de Salud Carlos III (AETS-ISCIID).

En 1997 lee su Tesis Doctoral y es nombrado Director de Programas. Posteriormente aprueba otra oposición como “Investigador Titular” y “Científico Titular” de los Organismos Públicos de Investigación (OPIS), puesto que desempeña en la actualidad.

En su muy extensa vida laboral, debido a que comenzó muy pronto su trabajo de funcionario, podemos decir que el Dr. Hernández tiene tres facetas que nunca abandona y son:

La informática, los balnearios y la investigación

Además de las titulaciones ya expresadas es:

Máster en Salud Pública. Escuela Nacional de Sanidad, Madrid. 1989.

Máster en Gestión de Empresas Biotecnológicas. 2011. Analista de Sistemas informáticos. Especialista en Informática Médica aplicada.

Diplomado en Escuela Nacional de Sanidad en Epidemiología y en Estadística Médica aplicada.

Ha dirigido o codirigido cinco tesis doctorales y se halla codirigiendo otras tres. Director de una veintena de Proyectos de investigación y coautor de dos Patentes Científicas: una sobre medición de poder antioxidante de aguas mineral medicinales y otra sobre fabricación y conservación de peloides naturales antioxidantes.

Es Vicepresidente de la Comisión Nacional de la Especialidad de Hidrología Médica, Presidente de la “Fundación Bilbilis” de iniciativa Aragonesa, como se supondrá por el nombre, dedicada a la investigación e innovación en Hidrología Médica y Balneoterapia. En su Web se puede encontrar, no sólo la información acerca de los balnearios y tratamientos, sino también una recopilación bibliográfica de más de nueve mil artículos y libros sobre el tema. Recomiendo a quienes estén interesados en estas materias visiten la Web de Fundación Bilbilis.

Fue el coordinador y coautor del libro de “Evaluación de Técnicas y Tecnologías Sanitarias de Hidrología Médica e Hidroterapia” de la AETS-ISCIH, libro que se puede bajar de la red y que versa sobre los usos actuales de las aguas mineromedicinales y sus formas de aplicación y en mayo del pasado año, del libro “Peloterapia: aplicaciones médicas y cosméticas de fangos termales”. Ha dirigido muchas otras Evaluaciones de Tecnologías Médicas en su trayectoria como funcionario por el Instituto de Salud Carlos III.

Diplomado, por diferentes escuelas de salud nacionales y extranjeras, ha realizado más de cincuenta publicaciones en libros y revistas científicas, un centenar de ponencias y comunicaciones a congresos. Miembro de cinco sociedades científicas nacionales e internacionales, ha pronunciado más de sesenta conferencias, ha sido profesor en más de veinte ocasiones en masters, cursos de doctorados y otro tipo de cursos.

Ha recibido media docena de premios nacionales e internacionales en Hidrología Médica, Geriátrica y envejecimiento, entre ellos el de la Real Academia de Medicina, la Real Academia de Medicina de Murcia y el Premio Internacional de Investigación en Hidrología Médica en 2003.

Hoy el Dr. Hernández nos va a disertar sobre los radicales libres, el poder antioxidante de las aguas, el envejecimiento, de los peloides y de otros temas actuales que espero que sean de su interés.

Muchas gracias.

SESIÓN DE CLAUSURA DEL CURSO 2015  
DEL DÍA 3 DE DICIEMBRE DE 2015

PRESIDE EL  
EXCMO. SR. D. MANUEL BUENO SÁNCHEZ

MODERNA APROXIMACIÓN  
A LA FARMACOLOGÍA  
DE LA DISCAPACIDAD INTELECTUAL

POR EL  
EXCMO. SR. PROF. D. JESÚS FLOREZ BELEDO  
CATEDRÁTICO DE FARMACOLOGÍA. UNIVERSIDAD DE CANTABRIA.  
PRESIDENTE, FUNDACIÓN IBEROAMERICANA DOWN21.

PRESENTADO POR EL  
ILMO. SR. D. MARIANO MATEO ARRIZABALAGA  
ACADÉMICO NUMERARIO





## **PRESENTACIÓN DEL DR. FLÓREZ POR EL DR. MATEO**

Excelentísimo Sr. Presidente

Excelentísimas Autoridades.

Excelentísimos e Ilustrísimos Sra. y Sres. Académicos.

Sras. y Sres.

Agradezco al Profesor Don Jesús Flórez Beledo su amabilidad al aceptar, para dirigirme la palabra, la oportuna invitación de la Presidencia de nuestra Academia, y a ésta, el cumplido que me hace al designarme para presentar a quien considero con toda justicia un clásico de la Farmacología.

Un recto juicio dispuso las dudas sobre mi idoneidad para tal cometido al entender que una presentación no implica sino la exposición de los méritos de aquél a quien corresponde el protagonismo. Sin embargo, la tarea que parece sencilla ateniéndose al consejo de Gracián de ser parcos en el halago, que no hace sino esconder las realidades con oropel innecesario, no resulta fácil, pues si la abundancia de árboles puede impedir ver el bosque, la riqueza del currículo, producto de la fructífera vida del Profesor Flórez, podría dificultar su interpretación. A pesar de ello, una atenta lectura del mismo permite apreciar, fortalecidas por una enorme capacidad de trabajo, tres motivaciones constantes: las vocaciones firmes por la docencia y por la investigación y la sensibilidad para el dolor humano, tanto físico como moral.

La biografía del Profesor Flórez comenzó el año 1936 con su nacimiento en Madrid como vástago de una familia cuyo título nobiliario ostenta hoy día nuestro invitado, Conde de Casa Flórez.

Siendo estudiante de Medicina en Pamplona, un día lejano en el tiempo, pero que intuyo digno de recuerdo, hubo de venir a Zaragoza para, según la normativa entonces vigente, examinarse de Farmacología, precisamente con quien a la sazón era catedrático de la asignatura: el Profesor Mateo Tinao, mi padre.

Es grato ahora para mí poder poner otro hito en aquél camino que, en el campo de la Farmacología, emprendió como estudiante, con el concurso de mi padre, el hoy Profesor Flórez.

Pronto ejerció la docencia nuestro invitado, pues fue profesor de Farmacología en la Universidad de Navarra en dos períodos: de 1962 a 1965,

doctorándose en 1964, y de 1968 a 1971, cuando organizó y dirigió el departamento de Farmacología a partir de 1968. Entre ambos períodos fue docente en Estados Unidos, en la Dartmouth Medical School de New Hampshire, desde 1965 a 1968, en que obtuvo también el doctorado.

Importante fue su paso, como Profesor Agregado, por la Universidad de La Laguna, en Canarias, entre los años 1971 y 1974, donde fue organizador y director del departamento de Farmacología. Allí coincidió con varios profesores agregados que luego fueron catedráticos de sus respectivas disciplinas en nuestra Facultad de Medicina de Zaragoza: los Profesores Don José Bueno, de Patología Médica, Don Manuel Bueno, de Pediatría, Don Julián Sanz, de Anatomía Patológica e Histología y Don Antonio Seva, de Psiquiatría, estos dos últimos desgraciadamente fallecidos, pero siempre presentes en nuestro recuerdo. El Profesor Flórez no sólo enseñó a los estudiantes, pues algo aprendieron sin duda los mencionados catedráticos, ya que recuerdan que recibían periódicamente un boletín con actualidades en Farmacología que Don Jesús distribuía.

Ya como catedrático, en 1974, pasó a la Universidad de Cantabria en Santander, sede de sus mayores logros profesionales y personales, donde permanece trabajando tras su jubilación, en 2007, y donde ha recibido importantes reconocimientos.

Testimonian su actividad docente numerosos y relevantes libros de consulta, sobre todo el que, después de su inicial “Compendio de Farmacología Humana” de 1981, ha llegado a ser, con el título de “Farmacología Humana”, el principal libro de referencia de la materia en España, ya por su sexta edición, de 2013. Este libro me ha hecho deudor suyo, como a otros muchos profesores de nuestra disciplina, en la medida en que ha sido instrumento de estudio indispensable para la preparación de las clases. En efecto, su claridad expositiva, que denota un discurso lúcido y coherente, profundiza lo necesario para comprender las más complejas cuestiones que plantea la explicación de una asignatura que, con fama de árida, leída en sus libros, resulta amena y apasionante.

Sus “Terapéutica farmacológica del dolor”, de 1993, “Fármacos y dolor”, de 2004 y “La Farmacología del dolor”, de 2007, son modelos de claridad no reñida con la profundidad y ejemplos de su sensibilidad ante el sufrimiento. También lo son sus participaciones en libros tan importantes como el tomo dedicado al Sistema Nervioso Central de las “Perspectivas Terapéuticas”, dirigido por el Profesor Esplugues, que fue Catedrático de Farmacología de la Facultad de Medicina de Valencia, en el que escribió, además de otros temas, el capítulo sobre opiáceos. Lo propio se podría decir del utilísimo libro que codirigió con el académico de nuestra corporación, el Profesor Martínez Lage, titulado “Neurofarmacología Fundamental y Clínica”, tan estudiado por mí.

En cuanto a su labor asistencial, fundó el primer Departamento de Farmacología Clínica de España en la sanidad pública, en el Hospital Marqués de Valdecilla, donde promocionó las áreas de “Monitorización de Fármacos” y de “Farmacovigilancia regional”.

Su actividad investigadora es abrumadora y se ha manifestado en la dirección de 18 tesis doctorales y más de 200 publicaciones en revistas tanto nacionales como internacionales. En el departamento de Farmacología Fundamental de la Universidad de Cantabria ha promovido diversas líneas de investigación en Neurociencia. Esta labor se puede sistematizar a lo largo de dos etapas con diferente contenido, pero con el denominador común de la búsqueda de soluciones para el dolor físico y moral: de 1962 a 1995, dirigió su atención, dentro del campo de la Neurofarmacología, a la del centro respiratorio, vinculada con la de los opiáceos, objetivo principal de su investigación, tanto en cuanto a sus acciones, como a los mecanismos de tolerancia y dependencia a éstos. A partir de 1995, en que funda el Laboratorio de Neurobiología del Desarrollo, donde sigue trabajando, se investiga por parte de un grupo que en la actualidad dirige la Profesora Martínez-Cué, en la búsqueda de soluciones terapéuticas para el retraso mental, con modelos animales genéticamente manipulados, precisamente el motivo de la conferencia de hoy. La trascendencia y originalidad de este trabajo ha hecho que este laboratorio sea tenido como de referencia en todo el mundo, en investigación en el modelo de ratón Ts65Dn, relacionado con el Síndrome de Down. Es en este campo en el que su actividad, que afortunadamente no cesa, apoyado por su esposa, D<sup>a</sup> M<sup>a</sup>Victoria Troncoso, coautora y coordinadora de numerosas obras sobre el Síndrome de Down, hace que la producción científica se dispare, a la par que los reconocimientos y su popularidad mediática. En efecto, preside la Fundación Iberoamericana Down 21, dirige tres revistas españolas, una de ellas virtual, cuyo objetivo es el Síndrome de Down, así como el Portal de Internet Canal Down 21, de referencia mundial en el tema.

También es asesor científico de la Fundación Síndrome de Down de Cantabria, que preside su esposa M<sup>a</sup> Victoria. En coherencia con lo anterior, ha escrito, colaborado y traducido numerosos libros, al menos una docena, fechados entre 1991 y la actualidad, y publicado más de 150 artículos de difusión y revisión, sobre la discapacidad intelectual y el Síndrome de Down, que jalonan un largo recorrido a través de un campo de la patología que tanto dolor personal y social ocasiona, a pesar de los importantes avances que, en lo tocante a la aceptación y promoción social de estos pacientes, se han producido. Cuánto de lo avanzado se debe, no sólo en España, sino en todo el mundo al Profesor Flórez, se infiere de lo dicho, demostrado por las publicaciones citadas. Pero si ustedes navegan por Internet y, sin necesidad de entrar en el Portal dirigido por él, escriben su nombre y apellidos: Jesús Flórez Beledo, por ejemplo en

Google, encontrarán numerosas referencias a su actividad, no sólo a sus publicaciones, sino también a sus intervenciones públicas, incluyendo vídeos en YouTube. Todo ello denota popularidad, ciertamente, pero de un científico de su talla lo que se espera es orientación y, sobre todo, consuelo. No cabe duda de que lo hallan y Dios lo bendiga por ello, pero el agradecimiento humano es a veces un instrumento muy utilizado por la Providencia para motivar e instar a la prosecución de la empresa y es así como ha recibido numerosos premios por su labor investigadora y divulgadora, sobre todo por lo referente al Síndrome de Down y por parte de su patria adoptiva, Cantabria.

He contado nada menos que veinte premios con los que ha sido galardonado, desde una temprana Beca Fulbright para Estados Unidos, pasando por el Premio Nacional de Ciencias de la CEOE, o el de Farmacología de la Fundación Esteve, o el “Galien”, por el nombre de Galeno, uno de los más importantes a la investigación farmacológica, pasando por el Grünenthal 2002, por sus aportaciones al estudio del Dolor, hasta el del Consejo General de Colegios Oficiales de Médicos a la Trayectoria Docente e Investigadora, de 2014.

Específicamente por su dedicación al estudio del Síndrome de Down ha recibido seis premios, dos de ellos a la familia Flórez Trocoso, compartidos evidentemente por su esposa, procedentes de distintas fundaciones e instituciones. Ejemplo de ello es su condición de Miembro Honorario de la Trisomy 21 Research Society de París desde 2015

Por parte de la Comunidad de Cantabria ha recibido otros seis, de “El Diario Montañés”, el Ateneo de Santander, la Consejería de Sanidad y Consumo de dicha Comunidad, la Medalla de Plata de la Universidad de Cantabria y la de Oro del Colegio de Médicos correspondiente. También le ha concedido en 2008 la Medalla de Oro la Cruz Roja Española.

Estos premios han sido concedidos no sólo por instituciones españolas, sino por otras de Francia, México, Argentina y Estados Unidos, y ello a lo largo de toda su carrera pero sobre todo en los últimos años. Por ejemplo, el año de su jubilación, 2007, recibió tres, y desde entonces cinco, lo que prueba que su producción científica y las consecuencias de lo hecho, todavía ahora están plenamente vigentes.

Como ha quedado demostrado, la vocación docente e investigadora y la sensibilidad para el sufrimiento humano han vertebrado y motivado la actividad científica del Profesor Flórez, que no debe dudarse pronunciará una conferencia tan importante y digna de recuerdo como para merecer sobradamente nuestro agradecimiento. Sean ahora los aplausos que prescribe la costumbre, más para él y para la Presidencia que le invitó, que para estas palabras que, sin halago alguno, han expuesto lo evidente sin otra pretensión.

Muchas gracias por su atención.

PREMIO ANALIZA & MONTPELLIER LABORATORIO 2015

TESIS DOCTORAL

ANGIOGENESIS AND LYMPHANGIOGENESIS  
IN MELANOMA

AUTORA

DRA. D<sup>a</sup>. IEVGENIA PASTUSHENKO



PREMIO REAL ACADEMIA DE MEDICINA 2015

EVOLUCIÓN DE LA INCIDENCIA DEL CÁNCER  
EN TODAS SUS LOCALIZACIONES  
ENTRE LOS AÑOS 2007 Y 2013 EN ARAGÓN

AUTOR

DR. D. GERMÁN JORGE GÓMEZ BERNAL

\*Resumen del Trabajo Premiado





## **EVOLUCIÓN DE LA INCIDENCIA DEL CÁNCER EN TODAS SUS LOCALIZACIONES ENTRE LOS AÑOS 2007 Y 2013 EN ARAGÓN. SITUACIÓN ACTUAL E IMPACTOS SOCIALES.**

### **LEMA: EVOLUCIÓN**

**Antecedentes:** La tarea básica de la epidemiología del cáncer es describir el acontecimiento del cáncer anotando diferencias, por ejemplo entre hombres y mujeres, personas de diferente edad, entre diferentes clases socioeconómicas, entre ocupaciones, entre periodos de tiempo, entre áreas de un país o diferentes países. El cáncer en España es la segunda causa de muerte del año 2013: el 28.3% de los fallecidos en nuestro país, fue por un tumor maligno. Hablando del cáncer, la prevención es la mejor de las medidas de las que disponemos para luchar contra ésta enfermedad, y tener conocimiento del estado epidemiológico de la enfermedad, es esencial para iniciar medidas preventivas.

**Objetivos:** El principal objetivo de éste trabajo es conocer de la forma más precisa la epidemiología del cáncer en Aragón, con la finalidad de que los datos obtenidos sean de utilidad para implementar las medidas necesarias para prevenir el cáncer en nuestra comunidad de manera efectiva.

**Material y Métodos:** La distribución por edad en Aragón es: el 13.6% de la población es menor de 15 años; el 8.3% es mayor de 65 años y el 10,5% es mayor de 75 años. Para la consecución de este trabajo se cuenta con una muestra representativa de Aragón procedente del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa. Los Programas informáticos estadísticos utilizados fueron Joinpoint, Epidat y Epiinfo, y se ha consultado bases de datos específicas que contienen datos relacionados con epidemiología del cáncer, destacándose GLOBOCAN, CANCER INCIDENCE IN FIVE CONTINENTS Y S.E.E.R. Se ha utilizado el método epidemiológico descriptivo, calculando tasas de incidencia específicas por sexo y por localización, así como las tasas ajustadas para cada uno de ellos ajustando a la población mundial de la OMS. Con el objetivo de conocer si han existido aumentos o disminuciones en alguna de las localizaciones de cáncer se ha empleado la técnica estadística de regresión lineal a través de la prueba *Joinpoint* (versión 4.0). Los parámetros exponenciados que entrega la regresión son la tasa de cambio porcentual anual (APC) de las tasas estandarizadas para cada periodo o segmento y el número y ubicación de los puntos de inflexión.

**Resultados:** Los datos ofrecidos representan el 42.64% de la cobertura del control de cáncer en Aragón. En esta muestra representativa de la población de Aragón, el número total de casos de cáncer ha sido de 11.949, desde el año 2007 al 2013 ambos incluidos. La distribución por sexo representa un 55% en hombres y un 45% en mujeres. Para el conjunto de hombres se observa una disminución de la tendencia de las tasas de incidencia, lo que habla de una reducción del impacto del cáncer en hombres. Por localizaciones observamos que los cánceres con tendencia decreciente son los de estómago, recto, hígado, laringe, pulmón, melanoma, encéfalo, vejiga, tiroides, testículo, Hodgkin, linfomas y mielomas. Para las mujeres, se observa una tendencia creciente para el total de cáncer en el periodo estudiado. Cánceres en mujeres con incremento y estadísticamente significativos, los encontramos en las localizaciones de pulmón, piel, mama y riñón. Incrementos no estadísticamente significativos los vemos en las localizaciones de esófago, recto, hígado, leucemia, cuerpo de útero, ovario y vejiga. Solamente para el cáncer de estómago existe una tendencia descendente y estadísticamente significativa. Laringe, melanoma, cuello de útero, carcinoma y CIN III, tiroides, encéfalo y linfoma, muestran una suave tendencia descendente, pero en ningún caso es estadísticamente significativa.

**Conclusiones:** Hemos observado que las tasas de incidencia por cáncer en hombres en Aragón, están disminuyendo a razón de 0.9% anual (95% LC -3; 1,2); es de remarcar que por primera vez existe un descenso de cáncer en los hombres en Aragón, siguiendo la línea de la tendencia del cáncer en los países europeos.

Sin embargo, en las mujeres no se ha conseguido que descienda en cáncer de mama y es notorio también el incremento para el total de cáncer en mujeres en el periodo estudiado. Esta tendencia es marcadamente positiva en especial para el cáncer de pulmón.

