

Instituto de España
Real Academia Nacional de Farmacia

De la investigación básica al descubrimiento de fármacos

Discurso del
Excmo. Sr. D. Joan Josep Guinovart Cirera

Leído en la sesión del día 26 de octubre de 2006
para su ingreso como Académico de Número

y

Contestación de la
Excma. Sra. Dña. María Teresa Miras Portugal



Madrid 2006

**De la investigación básica
al descubrimiento
de fármacos**

Instituto de España
Real Academia Nacional de Farmacia

De la investigación básica al descubrimiento de fármacos

Discurso del
Excmo. Sr. D. Joan Josep Guinovart Cirera

Leído en la sesión del día 26 de octubre de 2006
para su ingreso como Académico de Número

y

Contestación de la
Excma. Sra. Dña. María Teresa Miras Portugal



Madrid 2006

© Joan J. Guinovart, 2006
© M. Teresa Miras Portugal, 2006

Depósito legal: B-47.865-2006
Impreso en España
Impreso en Cargraphics

A los descendientes de Ca Simó,
estirpe de farmacéuticos de Alcover
durante más de 300 años.

Índice

Salutación y agradecimiento	9
Discurso de ingreso	15
«De la investigación básica...»: El estudio del metabolismo del glucógeno	17
Presentación	17
Introducción	18
Diferencias entre el metabolismo del glucógeno hepático y muscular	19
Activación de la glucógeno sintasa hepática	21
Control de la deposición de glucógeno hepático y muscular	23
Localización intracelular de los enzimas	26
Enfermedad de Lafora	28
«... al descubrimiento de fármacos»: Estudios sobre el wolframato	30
El wolframato como antidiabético oral	31
El wolframato en modelos de obesidad	41
El wolframato y la enfermedad de Alzheimer	42
El nuevo paradigma en investigación básica y progreso farmacéutico	44
La Biomedicina como área de futuro en España	49
Farmacia y salud global	52
Bibliografía	59
Oda a la farmacia	67
<i>De Pablo Neruda</i>	
Discurso de contestación	73
<i>Por María Teresa Miras Portugal</i>	
Su trayectoria vital	76
Comentarios a su trayectoria docente e investigadora	78
Comentarios a su discurso de ingreso	85
Consideración final	94

Excmo. Sr. Presidente
Excmos. Señoras y Señores Académicos
Queridos familiares y amigos
Señoras y Señores:

Es para mí una gran honor haber sido elegido Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia. Sin duda, debo entonar humildemente «*Non sum dignus*», ya que soy plenamente consciente de que estoy aquí gracias a la generosidad de los miembros de esta docta casa y muy particularmente de los Excelentísimos Sres. Académicos D. Bernabé Sanz Pérez, Dña. María Teresa Miras Portugal y D. Antonio Doadrio Villarejo, que tuvieron a bien proponerme como candidato. Les manifiesto, a todos ustedes, mi más profundo y sincero agradecimiento. Una mención especial para mi querida amiga la Excma. Sra. María Teresa Miras Portugal, que tan amablemente ha aceptado contestar en nombre de la Corporación a este discurso.

Debo y quiero aprovechar también este acto para recordar a todos los que han hecho posible que llegara hasta este punto. En primer lugar, a mi madre Pepi Cirera, que siempre me empujó a dar lo máximo y, según sus propias palabras, «a ser un hombre útil a la sociedad». No estoy seguro de haberlo conseguido, pero ciertamente lo he intentado. Ella fue quien me animó a estudiar Farmacia y hasta sus últimos días mantuvo un gran entusiasmo e interés por mi trabajo. A mi esposa Rosa Florensa, que con mucho amor, y una pequeña ayuda de las técnicas profesionales de trabajo social, ha sido

el pilar que ha dado soporte a mi vida. Soy consciente de lo mucho que le debo. Y a mi hija Caterina, que sólo me ha dado alegrías y de la que estoy extremadamente orgulloso. Me encanta que haya conseguido combinar espléndidamente su vocación por la ciencia con la dedicación humanitaria.

A mis maestros, particularmente a D. Serafín Sánchez, profesor del Colegio La Salle de Tarragona, que despertó en mí el interés por la Química, marcando la dirección que iba a tomar mi vida. A mis profesores de Bioquímica, los Dres. Vicente Villar Palasí y Manuel Rosell Pérez, en la Facultad de Farmacia, y Fernando Calvet Prats, en la de Química, de la Universidad de Barcelona. Ellos me descubrieron la ciencia que aún me tiene fascinado. El Dr. Manuel Rosell, además, me enseñó a investigar y me estimuló a perfeccionarme como docente. Y al Prof. Joseph Lerner, mi mentor posdoctoral en el Departamento de Farmacología de la Universidad de Virginia, que me educó en el valor del trabajo duro y de la fe en uno mismo. Sin ellos no estaría hoy aquí.

Me considero un hombre de suerte por haber tenido la oportunidad de trabajar con estudiantes y posdoctorales excelentes, sin los que no habría llegado muy lejos. Jóvenes inteligentes, audaces, animosos; creo que mi único, pequeño mérito, ha sido darles las oportunidades para que pudieran desarrollar su talento. Es para mí un privilegio poder ser considerado el tutor de científicos tan brillantes. Ellos me recompensan, de esa manera, con parte de su fama. También debo recordar a los excelentes colegas con los que he compartido proyectos y líneas de investigación, de los que tanto he aprendido, y que se han convertido, en muchos casos, en verdaderos amigos. A todos muchas gracias.

La generosidad que esta Real Academia tiene para conmigo al recibirme llena mi alma de gozo, pues comparto plenamente la opinión de mi antecesor en la medalla número 40, el Prof. Gregorio González Trigo quien en su discurso de recepción en esta casa dijo: «La Academia ocupa en el saber el último peldaño y quien lo alcanza consigue un alto honor». El Prof. González Trigo, farmacéutico y catedrático de Química Orgánica, fue hombre de firmes convicciones, honesto y trabajador infatigable, perte-

neciente a esa generación que con grandes esfuerzos y sacrificios reconstruyeron la ciencia en España, desmantelada después de la Guerra Civil. Al igual que en las torres humanas de mi Tarragona natal, mi generación se apoya y se levanta sobre los hombros de los que, como él, mantuvieron vivo y acrecentaron el espíritu científico en tiempos muy difíciles. Sin ellos, España no habría alcanzado el alto nivel del que goza en la actualidad.

Entre esos gigantes, debo mencionar al Prof. Ángel Santos Ruiz, que tanto amó a esta Real Academia y que, desde su Cátedra en la Facultad de Farmacia, fundó las bases de la Bioquímica en España. La Bioquímica es una ciencia profundamente farmacéutica, imprescindible para comprender las bases moleculares de la acción de los fármacos. Creció y se desarrolló en las facultades de Farmacia para luego expandirse al resto de facultades relacionadas con las ciencias de la vida y de ahí el gran número de licenciados en Farmacia que desempeñan un papel principal en dicha materia. Todos los bioquímicos y, particularmente los farmacéuticos, tenemos una deuda de gratitud con el Prof. Santos Ruiz.

También debemos reconocimiento al Prof. Alberto Sols, quien al regresar a España, tras su estancia en Estados Unidos, en años aún poco propicios para la investigación, estableció conexiones internacionales que resultaron vitales para el desarrollo de la Bioquímica en nuestra patria. La creación de la Sociedad Española de Bioquímica y su integración en IUBMB y en FEBS, y la celebración en Madrid del 6º Congreso Europeo de Bioquímica fueron sólo la punta del iceberg de su gran labor. Él tuvo una influencia decisiva en mi vida, ya que recomendó a Carlos Villar Palasí y a Manuel Rosell Pérez, mi director de tesis, que fueran a realizar su formación posdoctoral con Joseph Lerner, con quien D. Alberto había coincidido en el laboratorio de Carl y Gerty Cori. Ahí está el origen de mi interés por el metabolismo de los carbohidratos y la diabetes. El Prof. Sols siempre fue extraordinariamente amable conmigo, y cuando me quedé huérfano, científicamente hablando, me apoyó en numerosas ocasiones. Creo que me reconocía como miembro de la familia Cori, de la que él se consideraba jefe de la rama española. Quede constancia de mi cariño y agradecimiento.

Mi maestro, el Prof. Manuel Rosell Pérez, fue también farmacéutico. Tras realizar una tesis en el CSIC sobre virus vegetales se trasladó, como he mencionado, al laboratorio del Prof. Joseph Larner, entonces en Cleveland, donde llevó a cabo trabajos pioneros sobre la glucógeno sintasa, un enzima que había descubierto hacía poco Luis F. Leloir en Buenos Aires. Al finalizar su período posdoctoral se incorporó a la Cátedra de Bioquímica del Prof. Vicente Villar Palasí en la Facultad de Farmacia de Barcelona, de la que fue posteriormente profesor agregado y catedrático. Falleció, tempranamente, siendo decano de la misma en 1977. El Dr. Vicente Villar, que se había trasladado a la nueva Universidad Autónoma de Barcelona, de la que fue el primer rector, había fallecido poco antes, en 1974. Las clases del Prof. Manuel Rosell inmediatamente atrajeron mi atención. Eran diferentes, en ellas se respiraba un aroma internacional muy poco habitual en la universidad de los años sesenta. Así que tuve una gran alegría cuando aceptó dirigirme la tesis doctoral. Manolo era un hombre entusiasta, con una voluntad de hierro que le permitió superar los graves inconvenientes de su minusvalía física. En pocos años consiguió equipar su laboratorio con una ayuda de los *National Institutes of Health* y formar un numeroso equipo de investigación. Su muerte prematura truncó una brillante carrera. Al volver de mi estancia posdoctoral se pusieron de manifiesto los primeros síntomas de la grave enfermedad que poco después acabó con su vida. Así que tuve que ponerme al frente de sus clases y también de la línea de investigación sobre metabolismo de glucógeno que he continuado hasta estos días. Permítanme, en este momento, dedicar un cálido recuerdo al Prof. Manuel Rosell. Si la muerte no nos lo hubiera arrebatado, es muy probable que ahora estuviera sentado aquí, en este estrado.

El título de mi discurso es *De la investigación básica al descubrimiento de fármacos*. Expondré, en primer lugar, mi línea de investigación básica sobre el metabolismo del glucógeno y cómo, de forma no premeditada, ésta me llevó al descubrimiento de las acciones farmacológicas del wolframato de sodio. Este hallazgo dio lugar a la primera patente jamás vendida por la Universidad de Barcelona. Posteriormente siguieron otras cuyos derechos también fueron transferidos a la empresa por la Universidad. Actualmente se ha completado la fase I de ensayos clínicos y está a punto de comenzar

la fase II para el estudio de su actividad antiobesidad en pacientes. El compuesto puede ser también útil en el tratamiento de otras dolencias, como la diabetes y la enfermedad de Alzheimer.

A continuación, disertaré sobre el proceso general del descubrimiento de fármacos y de la transferencia de los resultados de la investigación biomédica básica a las empresas farmacéuticas, basándome en la experiencia adquirida en el Parque Científico de Barcelona y en el Instituto de Investigación Biomédica que dirijo.

Discurso de ingreso

del Excmo. Sr. D. Joan Josep Guinovart Cirera

«De la investigación básica...»:

El estudio del metabolismo del glucógeno

PRESENTACIÓN

El metabolismo del glucógeno ha sido una área en la que se han producido hallazgos que luego han demostrado ser generalizables al resto de la biología. Así, el descubrimiento de la regulación enzimática por fosforilación fue realizado inicialmente estudiando el control de la glucógeno fosforilasa. La segunda proteína descubierta, cuya actividad aumentaba por fosforilación, fue la fosforilasa quinasa. La tercera fue la glucógeno sintasa, aunque, en este caso, se inactivaba al ser modificada covalentemente. La glucógeno sintasa fue la primera proteína en la que se demostraron múltiples centros de fosforilación, lo que llevó más adelante al concepto de fosforilación jerárquica. Hoy día se reconoce la fosforilación como el mecanismo reversible más ampliamente utilizado para el control de la actividad de las moléculas biológicas. La glucógeno sintasa quinasa-3 (GSK-3) es un magnífico ejemplo, pues participa en múltiples y diversos procesos, si bien su nombre claramente delata dónde fue identificada por vez primera. El concepto de cascada enzimática también se desarrolló a partir del estudio de la activación de la glucogenólisis. Hoy es parte fundamental de todos los mecanismos de transducción de señales. El concepto de los mensajeros secundarios surgió también del estudio del efecto de las hormonas glucogenolíticas que llevó al descubrimiento del AMP cíclico. Las proteínas G fueron también identificadas en el estudio del efecto de la adrenalina sobre la adenilato ciclasa. ¿Cuál es la razón de que tantos descubrimientos fundamentales y de aplicación general se produjeran, precisamente, en el campo del metabolismo del glucógeno? Probablemente, la explicación sea que en ese campo coincidieron una serie de científicos geniales, cuya labor fue posteriormente

reconocida con el Premio Nobel. La lista es larga: Carl y Gerty Cori, Luis F. Leloir, Earl Sutherland, Edwin Krebs, Edmond Fisher, Alfred Gilman. Estoy seguro que el metabolismo del glucógeno aún nos va a deparar agradables sorpresas y va ser el terreno en el que se continuarán produciendo importantes descubrimientos.

Presento, a continuación una revisión del tema destacando las contribuciones más significativas llevadas a cabo en mi laboratorio.

INTRODUCCIÓN

La acumulación de glucógeno en mamíferos es una respuesta fisiológica al aumento de la concentración de glucosa en sangre, que ocurre después de la ingestión de alimentos. La vía metabólica que permite la incorporación de nuevos residuos de glucosa a una cadena creciente de glucógeno ha sido extensamente estudiada e implica la acción sucesiva de una serie de enzimas y proteínas reguladores. La glucógeno sintasa (GS), enzima descubierto por Luis F. Leloir, cataliza la adición de residuos de glucosa al extremo no reductor de una cadena naciente de glucógeno mediante enlaces β -1,4-glucosídicos usando UDP-glucosa (UDPGlc) como sustrato donador de glucosilo. Tradicionalmente se ha considerado que este enzima, que cataliza la etapa clave de la síntesis de glucógeno, es el que ejerce el mayor control sobre la vía. De hecho, la actividad GS está altamente regulada mediante la fosforilación en múltiples residuos y por efectores alostéricos, principalmente glucosa-6-fosfato (G6P). Sin embargo, avances recientes han demostrado que el control de la deposición del glucógeno no reside exclusivamente en la GS y se deberían considerar otros factores. Además, la regulación de la síntesis de glucógeno no sigue los mismos mecanismos en músculo e hígado.

La resolución de la estructura de la GS ha representado un gran reto. Ante la enorme dificultad de purificar y cristalizar la GS de mamífero, decidimos abordar la estructura cristalográfica de la GS de *Pyrococcus abyssi*, por tratarse del enzima conocido más pequeño de la familia de las glicosil-

transferasas que actúan con retención de configuración. La resolución de la estructura nos revela que esta proteína adopta una estructura cuaternaria en forma de trímero radial plano, mediante la interacción de los dominios N-terminal de cada monómero. La asimetría en la distribución de cargas que presentan ambas caras del trímero puede estar implicada en la interacción con el glucógeno u otras proteínas. La estructura del monómero está formada por dos dominios con plegamiento de tipo Rossmann, común a otras glicosiltransferasas. Es en la intersección entre los dos dominios donde encontramos el dominio catalítico. Gracias a alineamientos de secuencias de proteína de las GS eucariotas y procariotas disponibles en las bases de datos, se puede establecer que los glutámicos correspondientes a los que ocupan las posiciones 510 y 518 de la GS muscular humana están conservados durante la evolución de las glicosiltransferasas y son residuos importantes para la catálisis.

DIFERENCIAS ENTRE EL METABOLISMO DEL GLUCÓGENO HEPÁTICO Y MUSCULAR

En primer lugar, pondremos de manifiesto las principales diferencias en el manejo de la glucosa por parte del hígado y el músculo. En el hepatocito, las concentraciones de glucosa intra y extracelular están en equilibrio gracias a la gran capacidad de GLUT-2, el principal transportador de glucosa del hígado. Una vez dentro del hepatocito, la glucosa es fosforilada principalmente por la glucoquinasa (GK), una proteína monomérica de 50 kDa que exhibe unas propiedades cinéticas distintas del resto de isoformas de la familia de las hexoquinasas (HK) de mamífero. La GK no se inhibe por su producto, la G6P, posee una curva de saturación sigmoideal y tiene relativamente baja afinidad por la glucosa (coeficiente de Hill = 1,5-1,8, $S_{0,5} = 2-8$ mM, dependiendo de las especies); de esta forma, el flujo a través de la GK es sensible a las fluctuaciones de la glucosa dentro del rango fisiológico. En el hígado, la actividad de la GK está estrechamente regulada por la proteína reguladora de la GK (GKRP) que une e inhibe a la GK competitivamente respecto a la glucosa. El efecto inhibitorio de la GKRP se acentúa por fructosa-6-fosfato y se bloquea por

fructosa-1-fosfato, ya que ambos metabolitos se unen a la GKRP y modifican su afinidad por la GK.

En el músculo, la glucosa se internaliza principalmente mediante el GLUT-4, un transportador de glucosa de alta afinidad pero de baja capacidad. En ausencia de insulina, el GLUT-4 se localiza en vesículas citoplasmáticas, que translocan hacia la membrana plasmática en respuesta a la hormona. Así, en contraste con lo que ocurre en el hígado, el transporte de glucosa en el músculo es dependiente de insulina. Por otra parte, el músculo no posee GK pero, en cambio, expresa las hexoquinas de tipo I y II, ambas con alta afinidad por glucosa (K_m en el rango de micromolar), pero que se retroinhiben por G6P.

En el metabolismo hacia la síntesis de glucógeno, la G6P es convertida sucesivamente en G1P, por la acción de la fosfoglucomutasa (PGM), y luego a UDPGlc por la UDPGlc-pirofosforilasa (UDPGPP). Este último metabolito es el donador de glucosilos en la reacción catalizada por la GS. Ni la PGM ni la UDPGPP tienen isoformas específicas de tejido, de modo que tanto el músculo como el hígado expresan la misma forma. Por el contrario, existen dos isoformas de GS en mamíferos. La mayoría de órganos expresan la isoforma muscular, mientras que el isoenzima hepático parece ser específico de hígado. A pesar de que entre ambas isoformas hay un 70 % de identidad a nivel de la secuencia proteica, la mayor divergencia se concentra en las regiones amino y carboxiterminal, precisamente donde se sitúan los centros de fosforilación que regula la actividad del enzima. La región C-terminal también presenta un tramo de secuencia que está implicado en la respuesta al activador alostérico G6P. Estas diferencias, junto con su distinta localización intracelular, sugieren que las GS de músculo y de hígado tienen distintas capacidades de control de la síntesis de glucógeno en los órganos respectivos.

La glucógeno fosforilasa (GP) cataliza la etapa clave en la degradación de glucógeno, que rinde G1P. La GP se regula por mecanismos alostéricos y mediante la fosforilación de la serina 14 por la fosforilasa quinasa. La forma desfosforilada (GP_b) es menos activa que la forma fosforilada (GP_a). Igual que sucede con la sintasa, el músculo y el hígado expresan distintas

isoformas de GP. La GP hepática, al contrario de la muscular, está más estrechamente controlada por fosforilación que por efectores alostéricos y, por tanto, no se activa por AMP. Este metabolito puede contrarrestar la inactivación por fosforilación del isoenzima muscular.

ACTIVACIÓN DE LA GLUCÓGENO SINTASA HEPÁTICA

Una cuestión fundamental del metabolismo del glucógeno hepático es cómo un incremento de glucosa en sangre dispara la activación de la GS hepática. La activación se produce a través de la desfosforilación del enzima, catalizada probablemente por la proteína fosfatasa de tipo I. Se ha sugerido que la propia glucosa sería la responsable indirecta de la activación de la GS a través de un mecanismo secuencial, que previamente implicaría la inactivación de la GP. Así, la unión de glucosa a la GP_a favorecería su desfosforilación y, por tanto, conversión en GP_b. Ello liberaría a la fosfatasa de la GS de la inhibición causada por la GP_a, pero no por la GP_b. En consecuencia, la desfosforilación de la GP_a, conduciría a la desfosforilación y activación de la GS.

No obstante, evidencias de nuestro laboratorio indican que la glucosa debe fosforilarse para poder inducir la activación de la GS hepática. En un principio, demostramos que la activación de GP no es prerequisite para la activación de GS. Esta conclusión se extrae de dos estudios en los cuales el tratamiento con fructosa o cloruro de litio de hepatocitos aislados de ratas ayunadas activa simultáneamente GS y GP. Después mostramos que la activación de la GS está estrechamente correlacionada con los niveles intracelulares de G6P. Posteriormente, incubando hepatocitos aislados con diferentes monosacáridos encontramos que sólo aquellas hexosas capaces de rendir un éster fosfato en C6, como la glucosa y la 2-deoxiglucosa, activan la GS. El conjunto de todos estos resultados indica que la activación de la GS requiere la formación de G6P. El mecanismo sugerido es que la G6P se une a la GS causando la activación alostérica del enzima a través de un cambio conformacional que, simultáneamente, convierte a la GS en un mejor sustrato para las proteínas fosfatasas. La acción de estas fosfatasas conduce a la activación covalente de la GS. Así pues, la G6P debe

considerarse a la vez como un precursor y una molécula señalizadora que dirige la incorporación de glucosa al glucógeno.

Estudios de nuestro grupo, basados en el uso de cultivos de hepatocitos, indican que la GK es mucho más efectiva en mediar la activación de la GS hepática, a través de la producción de G6P, que la HK1. Hemos obtenido evidencias adicionales de este fenómeno mediante el estudio de las células FTO2B, derivadas de un hepatoma de rata, que expresan GS hepática y HK1, pero no GK. Estas células no sintetizan glucógeno, incluso a altas concentraciones de glucosa o cuando se sobreexpresa la GS hepática; sin embargo, la expresión de la GK les confiere la habilidad de sintetizar y acumular glucógeno, así como una glucólisis potenciada. De forma similar, la sobreexpresión de GK en cultivos primarios de hepatocitos favorece enormemente la acumulación de glucógeno. Además, la restauración de los niveles normales de GK en hepatocitos aislados de ratas diabéticas mejora la metabolización de la glucosa y su almacenamiento. También la G6P procedente de la gluconeogénesis es efectiva en la estimulación de la síntesis de glucógeno. Por otra parte, la sobreexpresión de la subunidad catalítica de la glucosa-6-fosfatasa (G6Pasa), que hidroliza la G6P, reduce la acumulación de glucógeno.

Aun así, mediante el uso de inhibidores de la GP que inducen su desfosforilación, se ha demostrado que mediante ciertas condiciones la GP puede jugar un papel en el mecanismo de control del estado de fosforilación de la GS. Estos resultados no entran en contradicción con los que demuestran el papel principal de la G6P, si se acepta que los niveles de GP son capaces de influir en el estado de activación de la GS siempre que la concentración intracelular de la G6P se mantenga constante. Sin embargo, un incremento en la concentración de G6P contrarrestaría la inhibición alostérica de la GS fosfatasa por parte de la GP, provocando el correspondiente incremento en los niveles de GS activa en los hepatocitos.

La diferente respuesta a la presencia de GK o HK es una característica específica de la GS hepática. La GS muscular expresada de forma heteróloga en células FTO2B se activa en ausencia de GK, bastándole la G6P producida por la HK endógena.

CONTROL DE LA DEPOSICIÓN DE GLUCÓGENO HEPÁTICO Y MUSCULAR

Como se ha mencionado anteriormente, en general se acepta que la GS es un enzima que cataliza la etapa limitante de la síntesis de glucógeno. La importancia de este enzima en el proceso global de deposición de glucógeno se confirma por la observación de que la sobreexpresión de GS en hepatocitos en cultivo incrementa la acumulación de glucógeno. Al aumentar la cantidad de GS total, hay también un aumento en la GS activa. Esta activación es debida a la G6P producida por la GK endógena. Sin embargo, cuando se sobreexpresa la GK, el incremento en la G6P resulta en un mayor grado de activación de la GS endógena, que también lleva a una deposición de mayores cantidades de glucógeno. Cuando ambos enzimas se sobreexpresan, hay una combinación de los dos efectos. El efecto positivo de la G6P en la deposición de glucógeno no se debe a un «empuje» del flujo que incrementa la concentración de sustrato, puesto que los niveles de UDPGlc se mantienen constantes en las células que sobreexpresan GK. El aumento en la concentración de G6P producida por la GK resulta en la desfosforilación de las moléculas de GS y, por tanto, en un incremento de la GS activa, que entonces «estira» el sustrato hacia glucógeno. Estos resultados confirman que la concentración catalítica de GS activa (llamada forma *I* o *a*) es el factor determinante de la síntesis de glucógeno. Cuando la glucosa se usa como sustrato, esta concentración viene determinada por los niveles totales de GS y GK.

En el análisis de control metabólico, el grado de control que un enzima determinado ejerce sobre una vía metabólica se expresa mediante el coeficiente de control. El hecho que la sobreexpresión de GK induzca de forma muy eficiente la deposición de glucógeno indica que la GK posee un coeficiente de control alto y positivo en este proceso, con un valor experimental superior a 1,0. Como el teorema del sumatorio indica que la suma de los coeficientes de control de todos los enzimas de una vía metabólica ha de ser igual a 1,0, otros componentes de la vía del glucógeno han de tener un coeficiente de control negativo. No obstante, el G6Pasa, el enzima que cataliza la reacción contraria a la GK, posee un coeficiente de control sólo

moderadamente negativo en la síntesis de glucógeno. La proteína que realmente puede contrarrestar a la GK es la GKRP, ya que tiene un coeficiente de control negativo y alto en valor absoluto. Así pues, el resultado final depende de las proporciones relativas de GK y GKRP, lo que confiere al hepatocito un mecanismo versátil para ajustar la fosforilación de glucosa, y a su vez la síntesis de glucógeno, que va más allá de la sensibilidad y capacidad de respuesta que proporciona un solo enzima de cinética sigmoideal.

En resumen, la síntesis de glucógeno hepático a partir de glucosa está sujeta a un sistema de control, en el cual el «controlador», GS, se encuentra a su vez controlado por GK y GKRP. Este sistema es diferente de las cascadas de fosforilación, en las que un enzima controla directamente la actividad del siguiente en la vía. En nuestro sistema, el control se ejerce indirectamente a nivel de G6P, que provoca la desfosforilación de la GS y la conduce a su activación.

El control de la síntesis de glucógeno en el músculo, sin embargo, reside en otras etapas. Resultados obtenidos en animales transgénicos que expresan una forma constitutivamente activa de la GS muscular de conejo muestran que, en músculo esquelético, el control de la síntesis de glucógeno está compartido entre el transporte de glucosa y la GS. Estos estudios muestran que la sobreexpresión de la GS muscular incrementa el contenido de glucógeno de varios tipos de fibras esqueléticas, pero los niveles de UDPGlc caen significativamente como resultado del aumento de la actividad GS y la falta de sustrato limita la acumulación de glucógeno. La HK1, que representa un alto porcentaje de la actividad hexoquinasa total en músculo esquelético, y la GS están, respectivamente, al principio y al final de la vía de síntesis de glucógeno en el músculo. La alta afinidad de la HK1 por la glucosa implica que ésta se fosforile rápidamente a G6P después de entrar en la célula y, por tanto, el tándem HK1-GS muscular es sensible a la baja concentración de glucosa intracelular presente en el músculo. Esto explica por qué el control de la síntesis de glucógeno en dicho órgano no reside en el enzima fosforilador, sino en GLUT-4, el transportador de la glucosa estimulado por insulina, y en la GS.

Así, pues, la glucosa extracelular está en equilibrio con la glucosa intrahepática, debido a las propiedades cinéticas del transportador hepático de

glucosa, GLUT-2. A pesar de que la GK es la principal actividad fosforiladora de glucosa en hepatocitos, HK1 también está presente a niveles considerables. Cuando la glucosa en sangre cae por debajo de 5 mM no hay un flujo significativo a través de la GK debido a su alta K_m por glucosa y al efecto de su proteína reguladora que disminuye la afinidad aparente de la GK por la glucosa. En esas condiciones, sólo la HK1 puede fosforilar la glucosa, pero la G6P que produce no puede ser dirigida hacia la síntesis de glucógeno porque no es capaz de activar la GS hepática. Únicamente cuando los niveles de glucosa sanguíneos suben por encima de un nivel límite la GK empieza a producir G6P, proporcionando así la señal que dispara la síntesis de glucógeno hepático. En este caso, el control de la síntesis de glucógeno no lo ejerce el transporte de glucosa sino GK y GS. Parece que la baja eficiencia de la HK1 para estimular la activación de la GS hepática es un mecanismo del hepatocito para asegurarse de que la acumulación hepática de glucógeno sólo se inicia cuando es necesaria, que es en el momento en que los niveles de glucosa en sangre son altos. Concluimos, por tanto, que las características de las dos parejas de isoenzimas, GK/GS hepática y HK1/GS muscular, así como las relaciones que se establecen entre ellas están diseñadas para satisfacer la función metabólica específica de los tejidos donde se expresan.

Esta conclusión se ve reforzada por nuestros estudios sobre la evolución de dichas proteínas. El análisis de las filogenias de los transportadores de glucosa (GLUT), hexoquinasas y glucógeno sintasas, indica que todos han sufrido duplicaciones génicas que han originado nuevas isoformas. Esta duplicación génica coincidió en el tiempo con la aparición de los vertebrados y una mayor especialización metabólica de tejidos como el hígado y el músculo. Al compartimentalizar la expresión de cada uno de los isoenzimas en tejidos diferentes, se contribuye a la creación de módulos metabólicos independientes.

El análisis profundo de las filogenias de los principales enzimas implicados en el metabolismo del glucógeno revela una serie de patrones evolutivos que se repiten en cada caso. El más destacable es que las distancias evolutivas que presentan las isoformas musculares en mamíferos de GLUT, GS y GP son

significativamente más cortas que las distancias de las correspondientes isoformas que se expresan mayoritariamente en el hígado. Esta diferencia tiene su reflejo en cuanto a velocidades evolutivas, calculadas a partir del número de mutaciones que se incorpora a la secuencia de cada gen (parámetro Ka/Ks). Así, se observa que las isoformas musculares y de cerebro de mamífero evolucionan a la mitad de velocidad de la que lo hacen los isoenzimas de hígado. Cabe destacar que estas diferencias en las velocidades evolutivas en función del patrón de expresión sólo son observables en las secuencias de mamífero, dado que en peces, anfibios y aves las isoformas hepáticas, musculares y de cerebro de GLUT, GS y GP evolucionan al mismo ritmo. Estos resultados sugieren que el metabolismo del glucógeno en músculo y cerebro de mamífero ha evolucionado hasta obtener un delicado equilibrio entre estos enzimas, que permite el correcto funcionamiento de la vía, y que podría verse alterado por la incorporación de nuevas mutaciones.

Experimentos de síntesis de glucógeno, realizados en células de mamífero transfectadas con hexoquinasas de levadura, muestran que los enzimas expresados en el hígado de los vertebrados retienen características bioquímicas ancestrales y son los isoenzimas de músculo los que han sufrido los mayores cambios antes de la aparición de los mamíferos.

En conjunto, los resultados de los estudios evolutivos junto con los datos bioquímicos confirman que los dos tándems, GLUT2/GK/GS hepática y GLUT4/HK/GS muscular, han coevolucionado para adaptarse a las necesidades metabólicas específicas del tejido en el cual se expresan.

LOCALIZACIÓN INTRACELULAR DE LOS ENZIMAS

La mayoría de enzimas que se han descrito en el texto cambian su localización subcelular en respuesta a glucosa, lo que constituye un mecanismo de control adicional. En ausencia de glucosa, la GK se localiza en el interior del núcleo del hepatocito, donde es retenida por la GGRP, pero se mueve hacia el citosol cuando aumentan los niveles de glucosa. Se ha descrito también que la HK1 se une reversiblemente a la membrana

externa de la mitocondria mediante un dominio hidrofóbico del extremo aminoterminal. Esta asociación, que es controlada parcialmente por los niveles intracelulares de G6P, desempeña un papel en la regulación de la actividad de HK1 *in vivo*. A baja concentración, la G6P favorece la asociación con la mitocondria y estimula la actividad de HK1, mientras que a elevadas concentraciones tiene el efecto contrario.

La GS muscular se concentra en el núcleo cuando se degrada el glucógeno citoplasmático y cuando aumenta la concentración de glucosa transloca de nuevo al citosol, donde adopta un patrón particulado. La inmunoprecipitación de la GS presente en fracciones nucleares purificadas y el análisis por espectrometría de masas de las proteínas que coimmunoprecipitan con la GS indican que la GS muscular forma parte de un complejo en el núcleo donde encontramos otras proteínas encargadas de la transcripción y procesamiento del RNA. Estos resultados son un paso hacia la comprensión de la función nuclear de la GS muscular, que se configura como un posible sensor del estado metabólico celular.

Por el contrario, la GS hepática presenta una distribución difusa en el citosol en ausencia de glucosa y se acumula en la periferia del hepatocito cuando la concentración de esta hexosa aumenta. La G6P es responsable tanto de la activación como de la translocación de la GS. Parece ser que el cambio conformacional inducido por la acción alostérica de la G6P que facilita la desfosforilación del enzima, además dispara la translocación de la proteína hacia la periferia celular.

Cambios en la distribución intracelular de la GS hepática y la GK inducidos por glucosa se correlacionan con la estimulación de la síntesis de glucógeno. La translocación de estos dos enzimas sugiere una disposición espacial del metabolismo del glucógeno en el hígado. En hepatocitos aislados de ratas ayunadas, las partículas nascentes de glucógeno se concentran cerca de la membrana plasmática e, inicialmente, el nuevo glucógeno sólo se sintetiza en la periferia del hepatocito. Después, estos depósitos de glucógeno crecen desde la periferia hacia el interior de la célula formando una corona que se va engrosando a medida que se alarga el tiempo de incubación con gluco-

sa. Aun así, al menos mientras hay acumulación neta de glucógeno, la síntesis del polisacárido siempre permanece activa cerca de la membrana plasmática. El glucógeno que se ha sintetizado primero se va desplazando hacia el centro de la célula y las moléculas recién sintetizadas ocupan su sitio. A medida que la síntesis del polisacárido progresa, se activa la síntesis de glucógeno en sitios internos del hepatocito, además de los cercanos a la membrana. La distribución de la GS sigue el mismo patrón que el glucógeno, sugiriendo que después del movimiento inicial hacia el córtex celular y, mientras la síntesis de glucógeno es activa, la GS permanece unida al glucógeno, su sustrato y producto.

La degradación del glucógeno también parece proceder ordenadamente. Cuando hepatocitos en cultivo con las reservas de glucógeno llenas son incubados sin glucosa, los acúmulos de GS se van reduciendo de tamaño gradualmente, pero permanecen en la periferia celular, indicando que el glucógeno remanente también se encuentra en ese lugar. La degradación del glucógeno mediada por la GP podría iniciarse en el interior celular y proceder hacia la periferia del hepatocito o empezar simultáneamente a lo largo y ancho del citoplasma. Sin embargo, en este último caso, las partículas de glucógeno deberían moverse hacia la periferia celular a medida que avanzara su degradación, de manera que, después de una exhaustiva depleción de las reservas del polisacárido, las partículas residuales se localizaran cerca de la membrana plasmática. La observación de que las partículas de glucógeno se sintetizan siguiendo un determinado orden y se degradan a la inversa, de manera que los últimos residuos de glucosa que se añaden son los primeros en liberarse, favorece la segunda hipótesis. La ordenada deposición y degradación del glucógeno puede representar una ventaja funcional en el metabolismo del polisacárido o simplemente permitir al hepatocito almacenarlo en grandes cantidades.

ENFERMEDAD DE LAFORA

Cuando parecía que se conocían todos los mecanismos de regulación de la GS, se descubre uno nuevo que actúa a través del control de la degradación

del enzima. Eso fue posible gracias al estudio de una enfermedad rara, la enfermedad de Lafora, que estamos llevando a cabo en colaboración con el Prof. Santiago Rodríguez de Córdoba, del Centro de Investigaciones Biológicas del CSIC en Madrid. La epilepsia mioclónica progresiva de Lafora es una enfermedad neurodegenerativa, caracterizada por la presencia de depósitos intracelulares, denominados cuerpos de Lafora, de composición similar al glucógeno. Fue descrita por el médico español Gonzalo Rodríguez Lafora (1886-1971). La enfermedad es causada por mutaciones recesivas en el gen que codifica para una proteína con actividad proteína fosfatasa dual capaz de interactuar con carbohidratos, conocida como laforina, o en el gen que codifica para una proteína denominada malina con actividad E3 ubiquitín ligasa. Los mecanismos moleculares por los que mutaciones en estos genes dan lugar a la enfermedad no han sido definidos, mientras que el papel fisiológico de laforina y malina permanecen desconocidos.

Trabajos en curso en mi laboratorio demuestran que laforina y malina tienen un papel directo en la regulación del metabolismo de glucógeno, ya que son capaces de impedir su acumulación mediante distintos mecanismos. Laforina desempeña un doble papel en esta regulación, dado que es capaz de impedir la desfosforilación y activación de la GS y, además, es clave para que malina pueda desarrollar su función. Malina puede estimular la degradación vía proteosoma de GS, pero requiere la interacción con laforina, independientemente de su actividad fosfatasa. De esta manera, demostramos que laforina y malina constituyen un sistema de freno de la síntesis de glucógeno, y evitan que esta macromolécula se acumule en exceso. Este mecanismo tiene especial importancia en neuronas. Estas células no acumulan normalmente glucógeno, pero la pérdida de la función de laforina o malina permite la formación de cuerpos de inclusión formados por glucógeno anormal. En este caso, la GS se perfila como una posible diana terapéutica, ya que su inhibición debería evitar la acumulación de los cuerpos de Lafora. El reto es encontrar productos con capacidad de inhibir el enzima y traspasar la barrera hematoencefálica.

«... al descubrimiento de fármacos»: Estudios sobre el wolframato

En nuestras investigaciones se planteó que los compuestos insulinoimiméticos podrían contribuir a esclarecer el mecanismo de acción de la insulina sobre la activación de la deposición de glucógeno hepático. En una primera fase, utilizamos el vanadato, aunque pronto nos dimos cuenta de que su alta toxicidad restaba valor a los resultados obtenidos. La búsqueda de posibles sustitutos, en una mezcla de proceso racional y de suerte, nos llevó a ensayar los efectos del wolframato, primero en células en cultivo y más tarde en animales diabéticos.

El wolframio es el único elemento químico aislado por primera vez en España. Fue obtenido por los hermanos Juan José y Fausto Delhuyar en el *Laboratorium Chemicum* de Bergara. Este elemento es muy poco abundante en la corteza terrestre, en la que se encuentra a una concentración aproximada de 1,5 ppm. El wolframato es mucho menos abundante en las células, aunque también forma parte de algunos enzimas de bacterias anaeróbicas, como los enzimas de la familia de la aldehído:ferredoxina óxido-reductasa y los de la familia de la formiato deshidrogenasa.

Los resultados obtenidos con el wolframato fueron tan positivos que inmediatamente pensamos que podía tener un futuro como agente antidiabético. Con la ayuda de la Oficina de Patentes de la Universidad de Barcelona, se obtuvo una patente de uso sobre el compuesto que se extendió a Estados Unidos y a Europa. Química Farmacéutica Bayer adquiere los derechos en 1996, siendo la primera patente vendida por la Universidad de Barcelona. En 2001, en otra patente conjunta con el Dr. Ramon Gomis de Barbarà, se protege también el uso del wolframato para el tratamiento de la obesidad.

De nuevo, Química Farmacéutica Bayer adquiere los derechos. Esta empresa encarga un exhaustivo estudio toxicológico, paso necesario previo al inicio de la fase de ensayos clínicos, que confirma la baja toxicidad del wolframato. Se ha completado ya la fase I de ensayos clínicos y está a punto de comenzar la fase II. Recientemente, y como resultado de un estudio realizado en colaboración con los Dres. Jesús Ávila de Grado y Ramon Gomis de Barbarà, se ha patentado también su posible aplicación para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otras enfermedades neurodegenerativas.

EL WOLFRAMATO COMO ANTIDIABÉTICO ORAL

La diabetes es una enfermedad crónica que conlleva un elevado número de complicaciones a corto y largo plazo, así como una disminución de la calidad de vida de los pacientes que la padecen. El número de personas afectadas por esta enfermedad crece en todo el mundo, siendo en los países en vías de desarrollo donde el incremento de casos es más alarmante. Los informes disponibles indican que en el año 2003 había 194 millones de diabéticos en el mundo, y que este número alcanzará los 333 millones en 2025. Podemos, pues, considerar que estamos ante una pandemia. Por este motivo, es de vital importancia encontrar medicamentos que abran nuevas soluciones terapéuticas para los pacientes diabéticos.

Sorprendentemente, el wolframato tiene una potente actividad antidiabética. Los efectos antidiabéticos del wolframato de sodio *in vivo* han sido descritos por mi laboratorio en 1994 en ratas convertidas en diabéticas por inyección de estreptozotocina (STZ). Este modelo animal de diabetes tipo 1 se caracteriza por una alta producción hepática de glucosa y un bajo consumo de la misma. Las ratas STZ presentan una grave hiperglucemia con polidipsia, polifagia y pérdida de peso. Sin embargo, los animales no desarrollan cetosis y pueden sobrevivir varias semanas sin administración exógena de insulina. El tratamiento oral con wolframato consigue reducir la glucemia y normaliza la ingesta de alimentos y agua. El estudio de los efectos del wolframato sobre el metabolismo hepático determina que este

compuesto normalizaba los niveles de glucógeno, que se encuentran disminuidos en la diabetes, probablemente debido a la recuperación de la glucoquinasa (GK). De hecho, la actividad de este enzima pasa de niveles prácticamente indetectables en los animales diabéticos a 100 veces más en los tratados, lo que favorece la acumulación de glucosa en forma de glucógeno, contribuyendo a la disminución de la glucemia. El wolframato también ejerce efectos insulinomiméticos sobre las vías glucolítica y gluconeogénica. En el caso de la vía glucolítica, es capaz de activar el enzima 6-fosfofructo-2-quinasa y aumentar la cantidad de piruvato quinasa (PK). Por lo que se refiere a la vía gluconeogénica, el wolframato reduce drásticamente los elevados niveles del principal enzima regulador de la vía, la fosfoenolpiruvato carboxiquinasa (PEPCK) observados en los animales diabéticos. Su administración continuada durante 8 meses permite determinar que no se produce una reducción de su actividad terapéutica. El tratamiento, además de aumentar de forma significativa la supervivencia de los animales diabéticos, previene los efectos degenerativos de la diabetes, como la vacuolización del epitelio tubular del córtex renal y la degeneración de la córnea.

En experimentos realizados en diafragmas de ratas STZ tratadas con wolframato por vía oral durante 6 semanas se observa que el tratamiento revierte el descenso en la expresión del transportador de glucosa GLUT 4 causado por la diabetes. Es más, se incrementa también la cantidad de GLUT 4 presente en las membranas plasmática e interna, sugiriendo una estimulación de su translocación a la membrana. En cambio, la cantidad total del transportador GLUT 1 no se ve modificada en ninguno de los grupos experimentales. Estos datos indican que el tratamiento con wolframato está restaurando la reducida capacidad de captación de glucosa a nivel muscular presente en los animales diabéticos.

En ratas sanas, el wolframato no presenta efecto significativo alguno sobre la mayoría de parámetros del metabolismo hepático de la glucosa. Tampoco provoca efectos secundarios asociados a los tratamientos a largo plazo ni en ratas sanas ni diabéticas, a diferencia de lo que ocurre con la administración de vanadato. Además, es necesario hacer hincapié en que en ningún

caso el wolframato induce episodios de hipoglucemia en los animales tratados.

El wolframato no sólo es activo en modelos de diabetes tipo 1. El compuesto también es eficaz en modelos de diabetes tipo 2 como las ratas nSTZ. Este modelo se genera por inyección de estreptozotocina el primer día de vida, de modo que existe una recuperación parcial de la población de células β pancreáticas y los animales desarrollan una hiperglucemia moderada. La causa principal de la hiperglucemia de estos animales es una respuesta disminuida de las células β pancreáticas al estímulo de la glucosa. La administración de wolframato normaliza la glucemia de estos animales, restablece la capacidad de las células β para responder a glucosa y, además, causa un aumento en el contenido de insulina y en la masa de las células β . El tratamiento induce un aumento en el número de células positivas para insulina cerca de los ductos, además de un incremento en el número de células positivas para PDX-1 (factor de transcripción involucrado en el desarrollo del páncreas) repartidas por el tejido exocrino, lo que sugiere una activa neogénesis. En los islotes de las ratas tratadas con wolframato, este compuesto aumenta la fosforilación de PDX-1, a través de la activación de la MAP quinasa p38. En conclusión, el tratamiento con wolframato es capaz de regenerar una población de células β pancreáticas estable y funcional que conduce al mantenimiento de la normoglucemia en estos animales. En ningún caso se observaron episodios de hipoglucemia.

Los modelos de diabetes inducidos por estreptozotocina presentan la limitación de que sólo mimetizan parcialmente la enfermedad en humanos. En particular, el modelo de rata nSTZ, aunque se considera un modelo de diabetes tipo 2, no está asociado a obesidad, los niveles plasmáticos de glucosa y triglicéridos nunca alcanzan los valores de los enfermos de diabetes tipo 2 y tampoco presentan resistencia a insulina, una de las características principales de la enfermedad en humanos. En contraste, las ratas ZDF (*Zucker-Diabetic-Fatty*) son el modelo animal genético de diabetes tipo 2, cuya patofisiología es más cercana a la enfermedad en humanos. Estos animales presentan una mutación en el gen *fa* que codifica para el receptor de la leptina, la hormona de la saciedad. Las ratas ZDF homocigotas para esta

mutación son obesas, desarrollan una progresiva resistencia a insulina e intolerancia a la glucosa entre las 3 y las 8 semanas de edad y ya son completamente diabéticas e hiperinsulinémicas a las 8-10 semanas. Los heterocigotos, en cambio, nunca desarrollan ni resistencia a insulina ni diabetes.

En ratas ZDF, el tratamiento con wolframato reduce la elevada hiperglucemia observada en los animales no tratados, además de retardar su aparición en tres semanas. Por otra parte, disminuye drásticamente los niveles plasmáticos de triglicéridos, contribuyendo a mejorar el estado diabético al reducir la lipotoxicidad. En cuanto al metabolismo hepático de la glucosa, las ratas ZDF no tratadas presentan una reducción de la actividad de enzimas como la GK, PK de hígado, GP y algunos metabolitos como la G6P. Por el contrario, enzimas gluconeogénicas como la PEPCCK están aumentados. Todas estas alteraciones se normalizan o mejoran significativamente después del tratamiento oral con wolframato, dando como resultado un incremento del flujo glucolítico y del acúmulo de glucógeno hepático, y una inhibición de la gluconeogénesis. Por otro lado, las ratas ZDF no tratadas presentan una ligera disminución en la actividad de la sintasa de ácidos grasos (FAS) hepática. El tratamiento con wolframato de estos animales aumenta la actividad de la FAS por encima de los valores de las ratas sanas y, además, da lugar a una importante disminución de los niveles de triglicéridos plasmáticos, probablemente gracias a la mayor utilización de éstos por los tejidos periféricos. En cuanto a los efectos a nivel pancreático, el tratamiento con wolframato no parece modificar la insulinemia, ni la respuesta secretora al estímulo de glucosa o la masa de células β pancreáticas, de modo que los efectos de este compuesto sobre el metabolismo hepático parecen prevalecer en este modelo.

Es necesario profundizar en el estudio de las dianas moleculares del wolframato para comprender mejor su mecanismo de acción y así abrir nuevas puertas al diseño de fármacos antidiabéticos. La hipótesis de trabajo es que el wolframato, directa o indirectamente, afecta a uno o varios de los componentes de la cascada de señalización de la insulina y estos efectos constituyen la base molecular de las acciones antidiabéticas de este compuesto. En este contexto analizamos sus efectos sobre los componentes de

la cascada de transducción de señales de la insulina y, en primer lugar, observamos que el wolframato no altera el estado de fosforilación de la subunidad β del receptor de insulina. Además, tampoco bloquea o retrasa su desfosforilación. Por el contrario, se observa un claro incremento de la fosforilación de ERK1/2, consistente con una activación transitoria de estas proteína quinasas, que presenta un pico entre los 5 y los 10 minutos de tratamiento, con una cinética muy similar a la inducida por la insulina. Esta fosforilación de ERK1/2 es necesaria para que el wolframato ejerza su efecto sobre la acumulación de glucógeno en hepatocitos, como se observa en experimentos con inhibidores de la fosforilación activadora de dicha quinasa.

La activación de ERK1/2 puede desencadenar diferentes acciones a nivel molecular; entre las más destacadas está la mitogénesis. Es importante hacer hincapié en que el tratamiento con wolframato no parece afectar la tasa proliferativa de las células tratadas estudiadas. Sin embargo, el wolframato sí afecta las proteínas involucradas en el metabolismo del glucógeno y la acumulación de este polisacárido. Por tanto, los efectos metabólicos de la activación de ERK1/2 en respuesta a wolframato prevalecen sobre los efectos mitogénicos. Estos novedosos efectos de ERK1/2 sobre el metabolismo del glucógeno y no sobre la proliferación podrían ser debidos a que las diferentes respuestas biológicas que generan estas proteína quinasas se rigen por una regulación espacio-temporal de su activación. Después de una estimulación durante un período largo, ERK1/2 se acumula progresivamente en el núcleo en forma inactiva. En este caso, el núcleo es el lugar donde se termina la señal. La activación por wolframato de ERK1/2 se produce durante un corto tiempo y este hecho podría favorecer que ejerciera su efecto, principalmente, sobre la fosforilación de otras proteínas, como p90RSK, a nivel citosólico, en lugar de tener efectos sobre la proliferación celular.

En cuanto al mecanismo por el cual el wolframato promueve la síntesis de glucógeno, observamos que el tratamiento aumentaba la fosforilación de GSK3 β en el residuo de serina consenso 9. Dicha modificación inactiva esta quinasa y promueve la activación de la glucógeno sintasa (GS), lo cual explica la estimulación de la síntesis del polisacárido. Es muy importante señalar

que la fosforilación de GSK3 β por wolframato es independiente de la activación de PI3K-PDK1-PKB/Akt, la principal vía encargada de la fosforilación de GSK3 en la cascada de señalización de la insulina. Además, tanto la activación de GS en hepatocitos como la fosforilación de GSK3 β inducidas por wolframato son dependientes de la fosforilación de ERK1/2 provocada por este compuesto, indicando que existe una conexión entre la fosforilación de ERK1/2, la de GSK3 y el incremento en la síntesis de glucógeno en células tratadas con este compuesto. Puesto que p90rsk/RSK1 se estimulaba fuertemente en respuesta a wolframato, éste podría ser el eslabón que uniera la fosforilación de ERK1/2 y la de GSK3.

Es importante resaltar otros trabajos que refuerzan el papel de la fosforilación de ERK1/2 y de GSK3 en el mecanismo de acción del wolframato. En primer lugar, hay que mencionar que este aumento en la fosforilación de ERK1/2 y GSK3 ha sido constatado también en otras líneas celulares, como la línea celular mTLC-1 (modelo de célula de Leydig), así como también en la línea celular neuronal SH-SY5Y. Por otro lado, se ha demostrado que el wolframato es capaz de aumentar la fosforilación de otras proteínas activadas por mitógenos (MAPK), como la MAPK p38, en islotes pancreáticos aislados.

Sin embargo, ERK1/2 no son las dianas primarias del wolframato; fue necesario analizar las proteínas que se encuentran por encima de ERK1/2 en la cascada de señalización de la insulina para identificar aquellas que se modifican en respuesta al tratamiento con wolframato.

Una opción obvia es que el wolframato estimulara proteínas situadas entre el receptor de insulina y las MAP quinasas, tales como IRS-1 o Shc. Sin embargo, ninguna de estas proteínas se ve alterada por el tratamiento con wolframato. Es, pues, necesario buscar otras proteínas capaces de explicar la activación observada de ERK1/2. Resultados obtenidos con anticuerpos fosfoespecíficos e inhibidores implican a MEK1/2 en el mecanismo de acción del wolframato. De forma similar se observa que Raf-1, también está implicada. Asimismo, Ras se activa directamente en respuesta a wolframato. Además, un dominante negativo de Ras bloquea la fosforilación de ERK1/2

en respuesta a wolframato. Por tanto, podemos afirmar que el tratamiento con wolframato activa la vía de ERK1/2 a partir de Ras, es decir, siguiendo la secuencia Ras/Raf/MEK/ERK. En contraste, como se ha mencionado anteriormente, la vía de PI3K, PDK1 y PKB/Akt no se ve modificada en respuesta al tratamiento con wolframato.

El hecho de que no se observen cambios en la fosforilación o actividad del receptor de insulina, IRS-1, Shc, PI3K o PDK1 obliga a plantearnos otras alternativas que expliquen la activación de Ras mediada por wolframato. Se puede descartar la implicación de otros receptores con actividad tirosina quinasa en la acción del wolframato al no observarse cambios en los niveles de fosforilación en tirosinas de los mismos. Por todo ello, decidimos realizar la búsqueda de otros mecanismos alternativos de activación de Ras y Raf.

PKC aumenta su fosforilación, consistente en una mayor activación de la proteína, en respuesta a wolframato. Además, mediante el uso de una extensa batería de inhibidores de esta familia de proteína quinasas, se constata que la activación de Ras y la fosforilación de ERK1/2 y de GSK3 β estimuladas por wolframato son dependientes de la activación de PKC. Sin embargo, ello no implica necesariamente que PKC sea la primera diana de su acción, ya que cuando se bloquea la activación de Ras mediante la expresión de adenovirus que codifican para un dominante negativo de esta proteína también se inhibe la fosforilación de PKC estimulada por wolframato. Por ello, es posible que los efectos del wolframato sobre Ras y sobre PKC funcionen en paralelo, o pongan de manifiesto una señalización cruzada entre estas dos proteínas. No obstante, hemos descubierto que las proteínas G, así como los receptores de siete dominios transmembrana ligados a proteínas G (GPCR), suponen una buena alternativa para explicar la activación de Ras y PKC por wolframato.

El tratamiento con toxina pertúsica, un catalizador de la ADP-ribosilación de las subunidades α de los heterotrimeros de proteínas G, principalmente de las subfamilias de proteínas G_i, G_o y G_t, bloquea la fosforilación de ERK1/2 inducida por wolframato e inhibe también la deposición de glucógeno estimulada por éste en hepatocitos, lo que claramente implica a las proteínas

G en su mecanismo de acción. Además de señalar a través de proteínas G heterotriméricas, los GPCR pueden interactuar directamente con varias pequeñas proteínas G (de la familia Ras, Rho, etc.) para regular ciertas cascadas de señalización. Por otro lado, está ampliamente documentado que la señalización de GPCR a través de proteínas G heterotriméricas ($G\alpha$ y $G\beta\gamma$) puede conducir a la activación de Ras.

Es importante señalar que en los últimos años se ha descrito un número creciente de ligandos de GPCR que activan ERK1/2 a través de la pareja $G\beta\gamma$ y sus efectores en la cascada de señalización. Existen evidencias que muestran que los receptores GPCR y los receptores con actividad tirosina quinasa comparten una vía de señalización común que converge en la activación de Ras. De hecho, las subunidades $G\beta\gamma$ pueden inducir una acumulación de Ras en la forma activa unida a GTP. Existen evidencias de que ciertos GPCR que señalan a través de $G\alpha_i$, es decir, sensibles a toxina pertúsica, son capaces de incrementar la fosforilación de ERK1/2 a través de una activación previa de Ras. Esta activación de Ras vendría mediada por las subunidades $G\beta\gamma$ asociadas a $G\alpha_i$.

Estos resultados están validados por el hecho de que la síntesis de glucógeno estimulada por wolframato en hepatocitos sea dependiente de la fosforilación de ERK1/2 y de que se observa fosforilación de p90^{rsk} y de GSK3 β en residuos clave para su actividad. La inactivación de GSK3 β mediada por wolframato conduce a la activación de la glucógeno sintasa, como demuestra el hecho de que el tratamiento con wolframato disminuya la fosforilación de la GS en un residuo fosforilado por GSK3 (Serina 641). La desfosforilación de este residuo conduce a la activación de la GS y al consiguiente aumento en la síntesis de glucógeno. Además, la fosforilación de GSK3 estimulada por wolframato, observada en hepatocitos, también es independiente de la fosforilación de PKB/Akt, ya que, a diferencia del tratamiento con insulina y EGF, el tratamiento con wolframato no aumenta la fosforilación de esta proteína quinasa. Puesto que el tratamiento con wolframato tampoco aumenta la actividad de la PI3K en hepatocitos podemos concluir que la inactivación de GSK3 estimulada por wolframato no es consecuencia de la activación de la ruta PI3K-PKB/Akt.

Además, el tratamiento de hepatocitos con toxina pertúsica bloquea la síntesis de glucógeno, la desfosforilación (activación) de la glucógeno sintasa y la fosforilación de ERK1/2 en respuesta a wolframato, datos que confirman la importancia de las proteínas G en la acción del wolframato en hepatocitos.

Con los datos obtenidos se plantea un escenario que explique las diversas acciones del wolframato observadas. En dicho escenario hay que tener en cuenta la relación existente entre receptores ligados a proteínas G, la fosfolipasa C (PLC), la PKC y los niveles de calcio intracelulares. La PLC estimulada por los GPCR produce diacilglicerol (DAG) y conduce a la liberación de calcio intracelular, que a su vez activan a las PKC. La PKC puede activar Raf probablemente debido a su capacidad para fosforilar a RKIP. Esta proteína inhibe a Raf y produce una interferencia con su dominio de unión a MEK. Cuando RKIP se fosforila por PKC se disocia de Raf, permitiendo que ésta pueda señalizar en la cascada mitogénica y además, mediante esta conformación no unida a Raf, RKIP puede interactuar con la quinasa GRK2 (quinasa inhibidora de la acción de proteínas G), inhibiendo la capacidad de esta proteína de atenuar la señalización a través de GPCR. Por lo tanto, la modulación de RKIP por PKC tiene dos funciones: la activación de Raf y la inhibición de la desensibilización de los GPCR, y ambos efectos se combinan para activar ERK. Actualmente, estamos intentando esclarecer la acción del wolframato sobre GRK2 y RKIP, al tiempo que pretendemos determinar exactamente cuál de las isoformas de proteínas G α sensibles a toxina pertúsica es la implicada en la acción del wolframato sobre la cascada de señalización de la insulina y la síntesis de glucógeno.

Es importante señalar que las proteínas G y sus receptores con frecuencia son dianas de compuestos con actividad terapéutica. En los últimos años, el 50 % de los nuevos medicamentos que han salido al mercado están dirigidos contra GPCR. Además, se estima que el 25 % de los 100 medicamentos más vendidos tienen como diana algún GPCR. Cabe señalar que existen aproximadamente 100 GPCR «huérfanos», para los cuales no se ha encontrado el ligando endógeno y cuya identificación abre nuevas expectativas en farmacología.

Nuestros resultados abren nuevas expectativas para la futura utilización del wolframato como fármaco antidiabético. Pero, sobre todo, nos permite plantear el diseño y la síntesis de nuevas moléculas similares al wolframato u otras que ejerzan su acción sobre algunas de las proteínas propuestas en este trabajo como dianas de este antidiabético.

A pesar de las similitudes entre las acciones del wolframato y las de la insulina existe una diferencia de suma importancia: el hecho de que el tratamiento con wolframato no produzca hipoglucemias ni en los animales sanos ni en los diabéticos tratados. Hemos mostrado que el tratamiento con wolframato modifica sólo algunas de las proteínas de la cascada de señalización de la insulina sin alterar otras, como la vía de PI3K/PDK1/PKB o el receptor de insulina. En cambio, las acciones del wolframato parecen estar mediadas por proteínas G, lo que no parece ocurrir con la insulina. Estas diferencias en el mecanismo molecular de insulina y wolframato podrían explicar el efecto hipoglucemiante indeseado de la primera que no se da con el segundo. Sin embargo, para llegar a aclarar totalmente este punto son necesarios nuevos estudios comparativos del mecanismo molecular de insulina y wolframato.

El punto más novedoso de esta investigación es, probablemente, la descripción de un mecanismo capaz de disminuir la glucemia en el que están implicadas algunas proteínas G y PKC, sin activación del receptor de insulina. La importancia de estos descubrimientos reside en el establecimiento de un nexo entre el aumento en la deposición del glucógeno, los receptores ligados a proteínas G y la activación de ERK1/2. Todo esto convierte a las proteínas G en una posible alternativa para el tratamiento de la diabetes. Asimismo, hemos identificado un amplio grupo de proteínas de la cascada de señalización de la insulina y de otras vías de señalización como dianas del wolframato de sodio, y hemos descrito una nueva situación en la que la activación de ERK1/2 tiene como consecuencia la posterior activación de la vía metabólica sin afectar la vía mitogénica. Estos resultados, además de permitir comprender el mecanismo de acción a nivel molecular de este compuesto, proveen nuevos datos que apuntan hacia ERK1/2, PKC y proteínas G como dianas potenciales para el diseño de nuevos fármacos antidiabéticos.

EL WOLFRAMATO EN MODELOS DE OBESIDAD

El tratamiento con wolframato de ratas obesas por alimentación con la denominada «dieta de cafetería» (aquella con un alto contenido lipídico) aumenta el gasto total de energía y favorece el catabolismo oxidativo de los ácidos grasos (AG) sobre las vías anabólicas, sin provocar una generación excesiva de radicales libres. Estas acciones provocan una mejora en la sensibilidad a la insulina, así como una reducción del aumento de peso y de la adiposidad de estos animales. Así se concluye de un estudio realizado por el Dr. Ramon Gomis de Barbarà del Hospital Clínic de la Universidad de Barcelona-IDIBAPS en el que hemos participado.

En cuanto al mecanismo de acción del wolframato en el control del peso corporal cabe destacar que este compuesto es capaz de aumentar la expresión de UCP1, la proteína termogénica más importante en roedores, aumentando así el gasto de energía. El wolframato también induce la expresión de genes relacionados con el transporte de ácidos grasos y su oxidación en el tejido adiposo. Por otro lado, la expresión de UCP2 y UCP3 también está aumentada en ratas obesas tratadas con wolframato, hecho que previene la excesiva generación de radicales libres y la acumulación de lípidos en la mitocondria durante la oxidación de los ácidos grasos, limitando así el daño oxidativo.

Mediante un extenso análisis proteómico, se han identificado 29 proteínas con expresión diferencial entre ratas delgadas y obesas. El tratamiento con wolframato de ratas obesas por dieta de cafetería revertía el 70 % de los cambios de expresión de esas proteínas moduladas por obesidad. Dichas proteínas están implicadas en funciones celulares como el metabolismo (lipídico y de carbohidratos), la estructura celular, procesos redox, así como transducción de señales. Entre estas últimas destaca Raf-1, cuya expresión aumenta en respuesta al tratamiento con wolframato.

Todo ello sugiere que el wolframato puede ser un agente eficaz para tratar la obesidad en humanos. La fase II de ensayos clínicos que nos permitirá averiguarlo está a punto de comenzar.

EL WOLFRAMATO Y LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

Un número creciente de autores proponen una denominación alternativa de la enfermedad de Alzheimer como diabetes tipo 3. Existe abundante literatura que muestra indicios acerca de la existencia de defectos en los niveles de insulina, sus receptores y su cascada de transducción en los pacientes de Alzheimer. De hecho, en algunos foros científicos se sugiere que un gran número de las características no explicadas de esta demencia, tales como la muerte celular y la formación de los ovillos neurofibrilares, parecen estar relacionadas con defectos en la señalización de insulina. Precisamente uno de los elementos de la cascada de transducción más relacionados en la actualidad con la etiopatogénesis de la enfermedad de Alzheimer es la proteína quinasa GSK3. Este enzima es inactivado cuando la cascada de la insulina está activa y en casos de resistencia a la hormona dicha inactivación es incompleta. Precisamente en los pacientes de enfermedad de Alzheimer, la GSK3 se encuentra anormalmente activa, lo que se traduce en un incremento en la fosforilación de sus sustratos. En el caso de las células neuronales, una de las principales dianas de la GSK3 es la proteína asociada a microtúbulos denominada factor tau. Consecuentemente, el factor tau se encuentra hiperfosforilado en pacientes con enfermedad de Alzheimer, lo que contribuye a su agregación en forma de los denominados ovillos neurofibrilares que, junto con los depósitos de amiloide, son las señas de identidad de esta enfermedad. Tal como se ha discutido anteriormente, nuestros resultados durante la investigación de las dianas moleculares del wolframato como antidiabético nos permiten identificar la GSK3 como uno de los enzimas que se inhiben con su tratamiento. La GSK3 está implicada en procesos celulares clave y su alteración en situaciones patológicas, que abarcan desde el cáncer hasta diabetes pasando por las enfermedades neurodegenerativas, la definen como una diana fundamental para el diseño de nuevos fármacos.

La observación antes expuesta de que el agente antidiabético wolframato inhibe GSK3 nos induce a sondear la posibilidad de su utilidad para evitar la hiperfosforilación del factor tau, la formación de los ovillos neurofibrilares y, por tanto la degeneración neuronal asociada a la enfermedad de

Alzheimer. El desarrollo de este proyecto ha sido realizado de forma coordinada con el Prof. Jesús Ávila en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa del CSIC de Madrid.

En primer lugar, hemos determinado que el tratamiento con wolframato ejerce acciones similares en neuronas a las observadas en otros tipos celulares, entre ellas la inhibición de la GSK3. También demostramos que la inhibición de la GSK3 es dependiente de la activación de las proteína quinasas ERK1/2 estimuladas por el wolframato. A continuación, observamos que, debido a la mencionada inhibición de la GSK3, se producía una disminución significativa de la fosforilación del factor tau en los residuos que son diana de esta proteína quinasa. En consecuencia, el wolframato es un inhibidor potencial de la formación de los ovillos neurofibrilares y, por tanto, podría evitar la muerte neuronal asociada a la enfermedad de Alzheimer. Actualmente, estamos abordando el estudio de los efectos del wolframato en modelos animales de enfermedad de Alzheimer.

Por tanto, este compuesto podría ser un buen candidato para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer u otros tipos de enfermedades relacionadas con un incremento del estado de fosforilación del factor tau. Éstas se hallan encuadradas en el término genérico de *tauopatías*, como la demencia frontotemporal con parkinsonismo asociado al cromosoma 17, la parálisis supranuclear progresiva, la esclerosis lateral amiotrófica/parkinsonismo demencia compleja de Guam, la enfermedad de Pick, la degeneración corticobasal y la argirofilia granulosa. Además, ya que el efecto del wolframato parece estar mediado por las proteína quinasas ERK1/2, las postula como nuevos candidatos a dianas para el diseño de fármacos contra la denominada diabetes tipo 3, como ya lo son para la diabetes mellitus y la obesidad.

El nuevo paradigma en investigación básica y progreso farmacéutico

Hoy nos encontramos ante un nuevo paradigma en el descubrimiento de fármacos. El sector farmacéutico puede experimentar en las próximas décadas un crecimiento sin precedentes, gracias a los avances realizados en distintas disciplinas de las ciencias de la vida, muy especialmente, en Biología Molecular.

La investigación sobre fármacos, entendida como una actividad industrial, no tiene mucho más de cien años. El descubrimiento de fármacos sólo pudo empezar cuando las ciencias en las que se apoya, principalmente, la Química y la Farmacología alcanzaron un grado suficiente de madurez. La industria farmacéutica empezó con los boticarios, quienes producían medicamentos a partir de sustancias naturales. Algunos de esos boticarios fundaron empresas farmacéuticas que han llegado hasta nuestros días.

El desarrollo de la Química nos llevó a lo que conocemos como la segunda revolución farmacéutica, porque permitió que algunas de las sustancias naturales tradicionales fueran sintetizadas en lugar de extraídas. Este avance tuvo sus bases en la Química Sintética, desarrollada principalmente por las compañías de colorantes, cuyo motor fue la hipótesis de que los colorantes podían ser usados como base para la síntesis de productos farmacéuticos. Fue en las compañías farmacéuticas donde se creó el entorno adecuado para que la Química y la Farmacología dieran vida a la primera generación de fármacos sintéticos.

A partir de la Segunda Guerra Mundial se inicia la influencia de la Microbiología y de la Bioquímica. Así, la nueva Biología se posiciona como ciencia importante para el descubrimiento de nuevos fármacos.

Actualmente, estamos al inicio de una cuarta fase con la entrada en escena de la Biotecnología. La Biología Molecular ha tenido un gran impacto en el descubrimiento de fármacos. En un primer momento, se limitó a la clonación y expresión de genes que codifican para proteínas con utilidad terapéutica. El número total de fármacos proteicos, principalmente proteínas recombinantes y anticuerpos monoclonales, no ha dejado de crecer en los últimos años y constituyen una porción importante de los nuevos fármacos. Citemos, entre ellos, el interferón, el activador tisular del plasminógeno, la eritropoyetina, la insulina, el Herceptin, el Rituximab, etc. Sin duda las proteínas, y muy principalmente los anticuerpos monoclonales, van a seguir contribuyendo a aumentar el arsenal terapéutico.

Sin embargo, la aportación fundamental de la Biología Molecular es su capacidad para comprender las bases moleculares de las enfermedades e identificar así dianas óptimas para su tratamiento. La mayoría de los fármacos conocidos utilizan unas 500 dianas moleculares. El mayor número, un 45 %, corresponde a receptores unidos a proteínas G. Los enzimas constituyen el 28 %, los relacionados con hormonas el 11 % y los canales iónicos el 5 %. Teniendo en cuenta que el genoma humano contiene alrededor de 35 000 genes y que, de éstos, unos 10 000 pueden estar relacionados con alguna enfermedad, sólo estamos usando un 5 % de las posibles dianas terapéuticas.

Por otra parte, en los últimos años el diálogo crítico entre biólogos y químicos ha sido reemplazado por la fuerza de los grandes números. La llegada de las técnicas genómicas, la secuenciación masiva de DNA, la Química Combinatoria y las técnicas de cribado masivo de compuestos (HTS) han creado un nuevo concepto de descubrimiento de fármacos. Cientos de dianas potenciales son incorporadas en ensayos *in vitro* o celulares y luego expuestas a un gran número de compuestos. De esta manera, se espera identificar aquellos capaces de modificar alguna de las dianas. Este tipo de experimentos ha generado una cantidad inmensa de información. Se calcula que hay más de 50 millones de «puntos», siendo un *punto* la descripción de los efectos de un compuesto a una concentración en un determinado ensayo. El incremento exponencial en el número de datos no ha dado, sin

embargo, resultados conmensurables en términos de productividad, puesto que las grandes compañías no han aumentado el número de nuevos productos que entran en el mercado. Es difícil juzgar aún el éxito del nuevo paradigma de descubrimiento de fármacos. Un «punto» sólo indica que un determinado compuesto tiene un índice de potencia o toxicidad en unas condiciones muy definidas. Es preciso validar los resultados en modelos más complejos y, eventualmente, comprobar que el compuesto es capaz de revertir los síntomas de la enfermedad para la que se destina. Si las preguntas son inapropiadas se consiguen respuestas sin sentido y eso pasa frecuentemente cuando se hacen barridos sobre dianas que no han sido validadas.

La situación actual es similar a la que se vivió a principios del siglo pasado. Entonces se pusieron las bases de la alianza entre químicos y farmacólogos que se desarrolló en el seno de la industria farmacéutica alcanzando resultados muy satisfactorios.

Ahora, a principios del siglo XXI han entrado en juego la Genómica, la Bioinformática y la Biología Estructural que van a generar una cantidad de resultados sin precedentes. El descubrimiento de fármacos es tan complejo que simplemente ya no puede quedar confinado a la industria farmacéutica tradicional. El desarrollo de nuevos fármacos requiere una base diversificada y flexible. Las empresas biotecnológicas emergentes y los contactos con centros académicos deben proporcionar los mecanismos para aplicar los conocimientos científicos a la solución de problemas sanitarios. Éstos se generan más fácilmente en nuevos ambientes donde científicos del mundo empresarial y del mundo académico puedan interactuar intensamente.

En España, la falta de tradición en actividades de transferencia de tecnología y la excesiva rigidez de los centros públicos de investigación son barreras que obstaculizan que el factor de innovación se desarrolle a buen ritmo. Además, la escasa permeabilidad entre el sistema investigador público y el tejido empresarial y social, sumado a la débil inversión de I+D+I de las empresas españolas nos sitúa entre uno de los países de nuestro entorno que menos patentes registra (cinco veces menos que Italia, 10 menos que Francia o 30 veces menos que Alemania) y que, por tanto, tiene uno de los

índices más débiles de conversión del esfuerzo investigador en innovación real y útil.

Los parques científicos surgieron como la respuesta de las universidades a una mayor implicación en las políticas de innovación y desarrollo económico a través de su I+D y están ayudando muy positivamente a paliar este déficit. La Declaración de Bolonia y las nuevas ideas sobre la construcción de una nueva universidad que ayudara a construir economías basadas en el conocimiento, sirvió de acicate para que las universidades europeas más dinámicas iniciaran una serie de cambios estratégicos para dar respuesta a las nuevas necesidades planteadas, y actuar como agentes principalísimos del sistema de innovación con el fin de incorporar el nuevo conocimiento al sistema económico.

También las universidades españolas recogieron el mensaje, y aquellas con mayor concentración académica y científica han potenciado, durante la última década, la creación de parques científicos, o parques científicos y tecnológicos, como instrumentos facilitadores de la interacción entre el sector académico y la empresa. Al fin y al cabo, se trata de hacer productiva la investigación que se genera en las universidades españolas y en los centros públicos de investigación.

El Parque Científico de Barcelona (PCB), impulsado por la Universidad de Barcelona, fue uno de los primeros parques científicos que se pusieron en marcha en España y llegó en el momento oportuno para sacar el máximo beneficio de la atmósfera que se respiraba ya en el país respecto a la investigación. La orientación del PCB fue el resultado del entorno (la industria catalana) y también de las circunstancias científicas del momento. Así, el énfasis de la investigación experimental se concentró en la investigación biomédica y el núcleo central de las industrias que se apuntaron al proyecto desde sus inicios pertenecía al área de la farmacia, la biotecnología y la biomedicina.

El parque reúne investigación básica y aplicada, innovación tecnológica, formación, transferencia de tecnología, registro de patentes, *spin-offs* y

start-ups (empresas de nueva creación de base tecnológica). Estas estructuras de innovación son el escenario perfecto para la creación de sinergias entre los principales agentes del sistema de innovación español, es decir, entre universidades y centros de investigación, administraciones públicas, entidades financieras y empresas. Estos agentes deben interactuar de la manera más fluida posible para promover la innovación, el espíritu emprendedor y la generación de valor al servicio del conjunto de la sociedad.

La creación del PCB fue la apuesta atrevida e innovadora del rector Excmo. y Magfco. Sr. Antonio Caparrós y del entonces vicerrector de Investigación y actual rector Magfco. de la Universidad de Barcelona, Excmo. Sr. Màrius Rubiralta. A mí, me cupo el honor de dirigirlo, para, tras poner en marcha su Instituto de Investigación Biomédica (IRB Barcelona), concentrarme en la dirección de este último. El Instituto fue incubado en el PCB, que actuó como nodriza solícita, hasta que, al alcanzar la madurez y masa crítica suficiente, adquirió su personalidad jurídica propia. Debo reconocer el papel fundamental que en este proceso ha ejercido el Excmo. Sr. D. Joan Massagué, Académico de Honor de esta casa. Su audaz visión de futuro y su determinación de crear un centro con estándares internacionales han influido, de forma decisiva, en el talante y el estilo del nuevo Instituto, del cual el Prof. Massagué es director adjunto.

El Instituto de Investigación Biomédica (IRB Barcelona), creado oficialmente como fundación privada en octubre de 2005, es el centro de investigación público de mayor envergadura en el entorno del PCB. El Instituto cuenta ahora con 25 grupos de investigación, que esperamos sean unos 40 cuando haya llegado a su compleción. Están estructurados en cinco programas prioritarios para el conocimiento biomédico, que reúne a farmacéuticos, químicos, biólogos, bioquímicos y médicos de primera línea científica. La misión del IRB Barcelona es promover investigación biomédica básica de excelencia y buscar la traslación de esos resultados a la industria, principalmente farmacéutica y biotecnológica, para el beneficio de todos, recorriendo el camino que lleva del conocimiento más básico a la traslación del mismo. Es fundamental conseguir que el conocimiento científico traspase las puertas del laboratorio y se traduzca en aplicaciones beneficiosas para

todos, como también lo es ser capaces de generar riqueza en el lugar en el que se ha desarrollado ese conocimiento.

Para la consecución de sus objetivos, el IRB Barcelona se beneficia del entorno del PCB, en que conviven la excelencia científica y el dinamismo empresarial, donde los investigadores, las empresas y la industria tienen la oportunidad de intercambiar ideas, utilizar las plataformas tecnológicas más avanzadas para desarrollar proyectos mixtos, y compartir un mismo espacio de comunicación pensado para la transferencia de conocimiento y tecnología. El entorno ofrece a los científicos una ventaja competitiva que no tienen otros centros de investigación. La ciencia funciona por ósmosis: cuanto más cerca están los centros y los investigadores, más posibilidades hay de difusión e intercambio cruzado, tanto desde el punto de vista de las ideas como de las personas, de jóvenes investigadores que pueden incorporarse a centros de I+D en el sector privado, o que tienen el espacio y el apoyo para implementar empresas de nueva creación de base tecnológica a partir del conocimiento alcanzado.

El vínculo que se establece en los parques científicos entre ciencia básica pero con visión –como la que plantea el IRB Barcelona– y empresa es, sin duda alguna, el factor fundamental para la creación de innovación, que es, a su vez, la gran fuente de generación de productividad para las empresas, y de progreso y bienestar para la sociedad en su conjunto. Esperamos que este entorno pronto dé frutos en forma de nuevas moléculas con potencial terapéutico, contribuyendo así al desarrollo de los nuevos fármacos «*Made in Spain*».

LA BIOMEDICINA COMO ÁREA DE FUTURO EN ESPAÑA

A principios del siglo XXI, la ciencia que está aportando los conocimientos con mayor potencial es la biomedicina. Conociendo la historia reciente y los rápidos avances hechos en ciencias de la vida, se aprecia la inmensa revolución cultural, económica y social que están comportando. La secuenciación del genoma humano y de muchos otros organismos (virus,

plantas e insectos) ha aportado una riqueza tal de información que, sin duda alguna, originará una explosión de aplicaciones, particularmente, en Farmacia y Medicina, que mejorarán nuestra vida y fomentarán el desarrollo económico y social.

España está ahora ante una oportunidad histórica para constituirse como país avanzado en investigación, capaz de competir con el norte de Europa y el resto del mundo. Este es el momento de la investigación farmacéutica y su fomento debe formar parte de la estrategia en política científica de cualquier sociedad avanzada, cuyo objetivo sea mejorar la salud de los ciudadanos y crear, a su vez, riqueza. Fomentar la investigación farmacéutica de calidad y competitiva asegurará el desarrollo económico, porque la generación de conocimiento nuevo incide directamente en el desarrollo de tecnologías y recursos que pueden implantarse en el sector productivo. Hoy día es la ciencia y los científicos los que realmente pueden marcar las diferencias y contribuir a crear los nuevos conocimientos de los que depende nuestra competitividad futura.

No debemos permitir que se pierda el tren ni tampoco estar en los furgones de cola. Para evitarlo, los tres actores principales del sistema de investigación e innovación tienen que sumar energías: la Administración pública, los centros y laboratorios de investigación tanto públicos como privados y, además, el sector industrial. La predisposición, la interacción y la estrategia común de estos tres actores principales del sistema, permitirán que España se posicione como país líder en el sector biomédico, o que, de otra manera, se pierda el tren.

Los gobernantes tienen ahora la oportunidad de instaurar un clima de confianza: ofrecer pruebas manifiestas, tangibles, de que se tiene la voluntad de llevar a España a la meta fijada: ser un país de ciencia. Hay indicadores positivos. Algunos, por ejemplo, son el establecimiento de nuevos centros de investigación pública en el territorio basados, ya desde su origen, en la excelencia científica, y orientados a problemas biomédicos. También lo son el esfuerzo en inversión realizado en los últimos años, que ha dado, entre otros frutos, la instalación de plataformas científicas de pri-

mer nivel (algunos ejemplos son el sincrotrón *Alba* o el supercomputador *Mare Nostrum*). Asimismo, científicos de renombre internacional, españoles y extranjeros, están aceptando dirigir laboratorios en centros españoles, y tenemos ya una masa crítica de científicos líderes capaces de generar conocimiento, que será trasladable al sector productivo. Puesto que disponemos de excelentes investigadores, particularmente jóvenes, podemos ser optimistas respecto de nuestro futuro en la Biomedicina dentro del panorama internacional.

Asimismo, para mantener esta oferta de científicos cualificados es necesario asegurar un buen nivel de enseñanza de las ciencias. Hacerla atractiva a los ojos de los jóvenes, ofreciéndoles oportunidades de futuro en la carrera investigadora, estimulándoles. Por otra parte, es imprescindible crear las condiciones para que se dé una valoración social positiva de la ciencia y que no sea vista con desconfianza. Es imprescindible que la sociedad sea consciente de los beneficios de realizar en el país investigación puntera en Biomedicina, desde la más básica a la aplicada, y los investigadores, los políticos y los representantes de los sectores empresarial y financiero podemos hacer mucho más para convencerles.

Finalmente, la atracción e implicación de empresas potentes hacia los núcleos de investigación de excelencia que se están extendiendo en el país, se debe trasladar, por ejemplo, en la transmisión de modelos de comportamiento emprendedor y de cultura empresarial. La integración de estas compañías en el entorno de los parques científicos y tecnológicos constituye en sí mismo un factor de dinamización y de atracción de actividad, así como de nueva localización por parte de empresas del sector farmacéutico y biotecnológico. Necesitamos fomentar el espíritu empresarial, la mentalidad innovadora, la generación de empresas biotecnológicas que produzcan beneficio por el conocimiento adquirido para el bien común.

Estamos ante un reto exultante y difícil. El futuro está ante nuestros ojos, la voluntad existe. Ahora conviene poner todo el esfuerzo en hacer de la investigación farmacéutica y la biotecnología uno de los valores de la sociedad española.

Farmacia y salud global

Una de las grandes virtudes de la Farmacia es haberse convertido en uno de los factores más importantes para la mejora de la calidad de vida. Les propongo un experimento mental. Supongamos dos situaciones imaginarias:

Situación A: Todos los avances realizados desde 1800 relacionados con la Farmacia y la Medicina se mantienen, pero el resto de los avances en ciencia y tecnología suponemos que no han tenido lugar.

Situación B: Es la inversa. Todos los avances de los últimos 200 años se han producido, excepto los relacionados con la Medicina y la Farmacia, donde nos quedamos como en 1800.

Pregúntese ahora en cuál de estos dos mundos imaginarios preferirían vivir. Creo que la mayoría elegiría la situación A. La interpretación obvia es que valoramos más los avances en Biomedicina que todos los demás adelantos juntos y podríamos decir que, por tanto, estos avances cuentan, a nuestro juicio, por más de la mitad del impacto de los descubrimientos científicos desde 1800.

Sin lugar a dudas, las ciencias biomédicas han ofrecido a la humanidad enormes beneficios. En el mundo desarrollado, los padres tenemos una alta probabilidad de ver que todos nuestros hijos llegan a mayores. La esperanza de vida, en el mundo occidental se ha duplicado en poco más de un siglo: de 40 a 80 años. Y la Farmacia ha hecho una contribución sustancial a este incremento. Junto con la higiene y la mejor alimentación, nuestra mayor esperanza de vida se debe a toda la panoplia de medicamentos que la Farmacia moderna ha puesto al servicio de la Medicina. ¿Cómo sería nuestra

vida sin analgésicos, antibióticos, insulina..? La cirugía mayor sólo ha sido posible al disponer de anestésicos. Más aún, gracias a las vacunas ya hemos erradicado la viruela de la faz de la Tierra y pronto lo conseguiremos con la polio y otros terribles azotes de la humanidad. Incluso uno de los elementos químicos más peligrosos, el cloro, ha sido convertido en un potente aliado en nuestra lucha contra la enfermedad, pues gracias a él se potabiliza el agua de consumo. No hay duda de que la Farmacia ha ofrecido a la humanidad el don más preciado: ni más ni menos que el regalo de una vida más larga y más grata.

Sin embargo, estos beneficios no han llegado por igual a todo el mundo. Hay una falta de vacunas y medicinas efectivas y seguras para el control de enfermedades infecciosas que causan una alta morbilidad y mortalidad en los países en vías de desarrollo. Son las llamadas enfermedades relacionadas con la pobreza, de las que la malaria, la tuberculosis y el sida constituyen el trío más mortífero. De los 1393 nuevos fármacos introducidos en el mercado desde 1975 hasta 1999, sólo 16 eran para las enfermedades tropicales y la tuberculosis. Los activistas se refieren frecuentemente al desequilibrio «10/90», según el cual sólo el 10 % de las inversiones en I+D de nuevos fármacos se dirigen a las denominadas «enfermedades huérfanas», que afligen al 90 % de la población mundial. Es, pues, necesario un impulso científico y político para desarrollar productos que no serían viables si sólo se tomasen en consideración las leyes del mercado.

Así, es evidente que se deben encontrar soluciones constructivas que permitan, por un lado, mantener los incentivos para la investigación y el desarrollo de nuevos fármacos y, a la vez, reducir las enormes diferencias de acceso a los medicamentos básicos. En un mundo globalizado, sin fronteras efectivas y con grandes movimientos de población, en el que la información fluye libremente a través de los medios de comunicación e internet, la respuesta a este desafío debe ser global.

Afortunadamente, se vislumbran iniciativas que a diferentes niveles, pueden converger en la necesaria solución. Naciones Unidas contempla entre sus ocho *Objetivos de desarrollo del milenio* detener y comenzar a reducir la

propagación del HIV/sida y la incidencia de la malaria y otras enfermedades graves. Destaquemos la creación del Fondo Mundial de Lucha contra el Sida, la tuberculosis y la malaria creado con el propósito de aumentar radicalmente los recursos para la lucha contra tres de las enfermedades más devastadoras del mundo y dirigir dichos recursos a las zonas más necesitadas. Como asociación entre los gobiernos, la sociedad civil, el sector privado y las comunidades afectadas, el Fondo Mundial representa un enfoque innovador de la financiación internacional de la salud.

Sin embargo, para desarrollar nuevos productos que no se justifican desde el estricto punto de vista financiero es preciso estimular a la industria farmacéutica. Para ello se han diseñado aproximaciones del tipo «empujar» (*push*) o «tirar» (*pull*).

Las acciones de tipo «empujar» avivan a la industria asumiendo parte de los costes del desarrollo clínico y preclínico de los nuevos fármacos o vacunas. Muchas de estas iniciativas han surgido de los llamados PPP (*Public Private Partnership*) o alianzas entre los sectores público y privado. Utilizando un modelo híbrido, estas organizaciones funcionan operativamente como compañías del sector privado, pero con las metas sociales del sector público logrando así el desarrollo de medicinas accesibles y adaptables a las realidades de los países endémicos. En ellas ha ido tomando cada vez más protagonismo el papel de las fundaciones filantrópicas, entre las que destaca la Fundación Bill y Melinda Gates. Se han creado, por ejemplo, alianzas para descubrir, desarrollar y distribuir medicamentos contra la malaria (*Medicines for Malaria Venture*), o contra la tuberculosis. La Alianza Global para el Desarrollo de Fármacos para la Tuberculosis (*TB Alliance*) es una organización sin fines de lucro, especializada en el desarrollo de nuevas terapias contra la tuberculosis. Con la financiación de la Fundación Bill y Melinda Gates, la Fundación Rockefeller y los gobiernos de Estados Unidos, el Reino Unido, Irlanda y Países Bajos, entre otros, la Alianza TB ha logrado desarrollar el mayor portafolio de nuevos fármacos contra la tuberculosis en el mundo.

Las acciones de tipo «tirar» garantizan a la industria la adquisición, a precios rentables, de productos sanitarios que luego son distribuidos de forma

gratuita o subvencionada entre los consumidores, que no podrían sufragar su precio de mercado. Entre ellas podemos señalar la Alianza Global para las Vacunas y la Inmunización (GAVI). La vacunación de los niños es una de las mejores inversiones de salud, ya que tiene una elevada relación entre el beneficio y el coste. No obstante, el precio de las vacunas, que no representa esfuerzo alguno para los padres del mundo desarrollado, es imposible de asumir en muchas partes del globo. Así, de los 130 millones de niños que nacen cada año, entre tres y cuatro millones mueren de enfermedades prevenibles con la vacunación.

La movilización de la comunidad científica en el estudio de las enfermedades relacionadas con la pobreza es otro de los componentes esenciales en la búsqueda de soluciones. Las acciones de la Unión Europea, a través de los Programas Marco, de los Institutos Nacionales de la Salud (NIH) de Estados Unidos y de diversas fundaciones están proveyendo de fondos a aquellos investigadores que se interesen por estos temas.

La industria, consciente de la importancia del problema y del impacto sobre su imagen, ha empezado a reaccionar. Así, por ejemplo, se ha creado recientemente el Instituto Novartis para las Enfermedades Tropicales (NITD) que, situado en Singapur, tiene por objetivo convertirse en un centro de referencia mundial en la investigación y formación sobre enfermedades tropicales. Aspira a descubrir tratamientos innovadores para las principales enfermedades infecciosas, con un especial énfasis en el dengue, la tuberculosis y la malaria. Fundado como una PPP con el *Singapore Economic Development Board* (EDB), es una organización sin ánimo de lucro orientada también a la educación de científicos y estudiantes de países en desarrollo sobre temas relacionados con enfermedades tropicales.

Asimismo, entre los proyectos más prometedores de la Alianza Global en el Desarrollo de Fármacos para la Tuberculosis se encuentran cuatro programas de desarrollo con los laboratorios de la compañía GlaxoSmithKline (GSK) en Tres Cantos, en Madrid. Estos proyectos están diseñados para atacar al bacilo de la tuberculosis a diferentes niveles.

Todo este conjunto de acciones e iniciativas llevarán, sin duda, a resolver muchos de los problemas globales de salud. Estamos, pues, en el camino para conseguir que en un próximo futuro toda la humanidad, y no sólo unos pocos, se beneficie de esa grandiosa **victoria de la vida sobre la muerte** que ha logrado la Farmacia.

Permítanme, para finalizar, recitarles un fragmento de «Oda a la farmacia» de Nefalí Ricardo Reyes Basoalto, Pablo Neruda, que expresa de forma admirable la grandeza de nuestra ciencia:

A medida
que en el laboratorio
combatiendo
la muerte
avanza
la bandera
de la vida,
se registra
un movimiento
en el aroma
de la vieja farmacia:
los lentos
bálsamos
del pasado
dejan
sitio
a la instantánea caja
de inyecciones
y concentra una cápsula la nueva
velocidad
en la carrera
del hombre con la muerte.
Farmacia, que sean
victorias
de la vida,

de toda
vida
humana
contra
la poderosa
muerte,
tus victorias.
Y así serán mejores
tus laureles,
serán más olorosos los sulfatos,
más azul el azul de metileno
y más dulce la paz de la quinina.

He dicho.

Bibliografía

- Agius, L., Centelles, J. y Cascante, M. (2002): Multiple glucose 6-phosphate pools or channelling of flux in diverse pathways? *Biochem Soc Trans*, **30**, 38-43.
- Agius, L. y Peak, M. (1997): Binding and translocation of glucokinase in hepatocytes. *Biochem Soc Trans*, **25**, 145-150.
- Ahmad, Z., Camici, M., DePaoli-Roach, A.A. y Roach, P.J. (1984): Glycogen synthase kinases. Classification of a rabbit liver casein and glycogen synthase kinase (casein kinase-1): as a distinct enzyme. *J Biol Chem*, **259**, 3420-3428.
- Arden, C., Baltrusch, S. y Agius, L. (2006): Glucokinase regulatory protein is associated with mitochondria in hepatocytes. *FEBS Lett*, **580**, 2065-2070.
- Armstrong, C.G., Doherty, M.J. y Cohen, P.T. (1998): Identification of the separate domains in the hepatic glycogen-targeting subunit of protein phosphatase 1 that interact with phosphorylase a, glycogen and protein phosphatase 1. *Biochem J*, **336**, 699-704.
- Ballester, J., Domínguez, J., Muñoz, M.C., Sensat, M., Rigau, T., Guinovart, J.J. y Rodríguez-Gil, J.E. (2005): Tungstate treatment improves Leydig cell function in streptozotocin-diabetic rats. *J Androl*, **26**, 706-715.
- Barberà, A., Fernández-Álvarez, J., Truc, A., Gomis, R. y Guinovart, J.J. (1997): Effects of tungstate in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats: mechanism leading to normalization of glycaemia. *Diabetologia*, **40**, 143-149.
- Barberà, A., Gomis, R.R., Prats, N., Rodríguez-Gil, J.E., Domingo, M., Gomis, R. y Guinovart, J.J. (2001): Tungstate is an effective antidiabetic agent in streptozotocin-induced diabetic rats: a long-term study. *Diabetologia*, **44**, 507-513.
- Barberà, A., Rodríguez-Gil, J.E. y Guinovart, J.J. (1994): Insulin-like actions of tungstate in diabetic rats. Normalization of hepatic glucose metabolism. *J Biol Chem*, **269**, 20047-20053.
- Barceló-Batllo, S., Corominola, H., Claret, M., Canals, I., Guinovart, J. y Gomis, R. (2005): Target identification of the novel antiobesity agent tungstate in adipose tissue from obese rats. *Proteomics*, **5**, 4927-4935.
- Bhattacharya, M., Babwah, A.V. y Ferguson, S.S. (2004): Small GTP-binding protein-coupled receptors. *Biochem Soc Trans*, **32**, 1040-1044.
- Beltrán del Río, H. y Wilson, J.E. (1992b): Interaction of mitochondrially bound rat brain hexokinase with intramitochondrial compartments of ATP generated by oxidative phosphorylation and creatine kinase. *Arch Biochem Biophys*, **299**, 116-124.
- Bork, P., Sander, C. y Valencia, A. (1993): Convergent evolution of similar enzymatic function on different protein folds: the hexokinase, ribokinase, and galactokinase families of sugar kinases. *Protein Sci*, **2**, 31-40.

- Brown, J., Miller, D.M., Holloway, M.T. y Leve, G.D. (1967): Hexokinase isoenzymes in liver and adipose tissue of man and dog. *Science*, **155**, 205-207.
- Browner, M.F., Nakano, K., Bang, A.G. y Fletterick, R.J. (1989): Human muscle glycogen synthase cDNA sequence: a negatively charged protein with an asymmetric charge distribution. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **86**, 1443-1447.
- Buschiazzo, A., Ugalde, J.E., Guerin, M.E., Shepard, W., Ugalde, R.A. y Alzari, P.M. (2004): Crystal structure of glycogen synthase: homologous enzymes catalyze glycogen synthesis and degradation. *Embo J*, **23**, 3196-3205.
- Carabaza, A., Ricart, M.D., Mor, A., Guinovart, J.J. y Ciudad, C.J. (1990): Role of AMP on the activation of glycogen synthase and phosphorylase by adenosine, fructose, and glutamine in rat hepatocytes. *J Biol Chem*, **265**, 2724-2732.
- Cárdenas, M.L. (1997): Kinetic behaviour of vertebrate hexokinases with emphasis on hexokinase D (IV), *Biochem Soc Trans*, **25**, 131-135.
- Cárdenas, M.L., Cornish-Bowden, A. y Ureta, T. (1998): Evolution and regulatory role of the hexokinases. *Biochim Biophys Acta*, **1401**, 242-264.
- Corqueira César, M. de y Wilson, J.E. (2002): Functional characteristics of hexokinase bound to the type a and type B sites of bovine brain mitochondria. *Arch Biochem Biophys*, **397**, 106-112.
- Chan, E.M., Ackerley, C.A., Lohi, H., Ianzano, L., Cortez, M.A., Shannon, P., Scherer, S.W. y Minassian, B.A. (2004): Laforin preferentially binds the neurotoxic starch-like polyglucosans, which form in its absence in progressive myoclonus epilepsy. *Hum Mol Genet*, **13**, 1117-1129.
- Chan, E.M., Young, E.J., Ianzano, L., Munteanu, I., Zhao, X., Christopoulos, C.C., Avanzini, G., Elia, M., Ackerley, C.A., Jovic, N.J., Bohlega, S., Andermann, E., Rouleau, G.A., Delgado-Escueta, A.V., Minassian, B.A. and Scherer, S.W. (2003): Mutations in NHLRC1 cause progressive myoclonus epilepsy. *Nat Genet*, **35**, 125-127.
- Cid, E., Cifuentes, D., Baqué, S., Ferrer, J.C. y Guinovart, J.J. (2005): Determinants of the nucleocytoplasmic shuttling of muscle glycogen synthase. *Febs J*, **272**, 3197-3213.
- Cid, E., Geremia, R.A., Guinovart, J.J. y Ferrer, J.C. (2002): Glycogen synthase: towards a minimum catalytic unit? *FEBS Lett*, **528**, 5-11.
- Cid, E., Gomis, R.R., Geremia, R.A., Guinovart, J.J. y Ferrer, J.C. (2000): Identification of two essential glutamic acid residues in glycogen synthase. *J Biol Chem*, **275**, 33614-33621.
- Ciudad, C.J., Massagué, J. y Guinovart, J.J. (1979): The inactivation of glycogen phosphorylase is not a prerequisite for the activation of liver glycogen synthase. *FEBS Lett*, **99**, 321-324.
- Ciudad, C.J., Massagué, J., Salavert, A. y Guinovart, J.J. (1980): Synthesis of glycogen from fructose in the presence of elevated levels of glycogen phosphorylase a in rat hepatocytes. *Mol Cell Biochem*, **30**, 33-38.
- Claret, M., Corominola, H., Canals, I., Saura, J., Barceló-Batllo, S., Guinovart, J.J. y Gomis, R. (2005): Tungstate decreases weight gain and adiposity in obese rats through increased thermogenesis and lipid oxidation. *Endocrinology*, **146**, 4362-4369.
- Coutinho, P.M., Deleury, E., Davies, G.J. y Henrissat, B. (2003): An evolving hierarchical family classification for glycosyltransferases. *J Mol Biol*, **328**, 307-317.
- Danial, N.N., Gramm, C.F., Scorrano, L., Zhang, C.Y., Krauss, S., Ranger, A.M., Datta, S.R., Greenberg, M.E., Licklider, L.J., Lowell, B.B., Gygi, S.P. y Korsmeyer, S.J. (2003): BAD and glucokinase reside in a mitochondrial complex that integrates glycolysis and apoptosis. *Nature*, **424**, 952-956.

- Dawkins, M.J. (1963): Glycogen Synthesis and Breakdown in Fetal and Newborn Rat Liver. *Ann N Y Acad Sci*, **111**, 203-211.
- Dent, P., Lavoinne, A., Nakielny, S., Caudwell, F.B., Watt, P. y Cohen, P. (1990): The molecular mechanism by which insulin stimulates glycogen synthesis in mammalian skeletal muscle. *Nature*, **348**, 302-308.
- DeRisi, J.L., Iyer, V.R. y Brown, P.O. (1997): Exploring the metabolic and genetic control of gene expression on a genomic scale. *Science*, **278**, 680-686.
- Domínguez, J.E., Muñoz, M.C., Zafra, D., Sánchez-Pérez, I., Baqué, S., Caron, M., Mercurio, C., Barberà, A., Perona, R., Gomis, R. y Guinovart, J.J. (2003): The antidiabetic agent sodium tungstate activates glycogen synthesis through an insulin receptor-independent pathway. *J Biol Chem*, **278**, 42785-42794.
- Duckworth, B.C. y Cantley, L.C. (1997): Conditional inhibition of the mitogen-activated protein kinase cascade by wortmannin. Dependence on signal strength. *J Biol Chem*, **272**, 27665-27670.
- Farkas, I., Toth, B., Vereb, G., Csontos, C. y Gergely, P. (1988): Activation/dephosphorylation of rabbit muscle glycogen synthase by the catalytic subunits of protein phosphatase-1 and 2A. *Acta Biochim Biophys Hung*, **23**, 231-246.
- Fernández-Álvarez, J., Barberà, A., Nadal, B., Barceló-Batlloiri, S., Piquer, S., Claret, M., Guinovart, J.J. y Gomis, R. (2004): Stable and functional regeneration of pancreatic beta-cell population in nSTZ-rats treated with tungstate. *Diabetologia*, **47**, 470-477.
- Fernández-Novell, J.M., Ariño, J., Vilaró, S., Bellido, D. y Guinovart, J.J. (1992a): Role of glucose 6-phosphate in the translocation of glycogen synthase in rat hepatocytes. *Biochem J*, **288**, 497-501.
- Fernández-Novell, J.M., Ariño, J., Vilaró, S. y Guinovart, J.J. (1992b): Glucose induces the translocation and the aggregation of glycogen synthase in rat hepatocytes. *Biochem J*, **281**, 443-448.
- Fernández-Novell, J.M., López-Iglesias, C., Ferrer, J.C. y Guinovart, J.J. (2002): Zonal distribution of glycogen synthesis in isolated rat hepatocytes. *FEBS Lett*, **531**, 222-228.
- Fernández-Sánchez, M.E., Criado-García, O., Heath, K.E., García-Fojeda, B., Medrano-Fernández, I., Gómez-Garre, P., Sanz, P., Serratosa, J.M. y Rodríguez de Córdoba, S. (2003): Laforin, the dual-phosphatase responsible for Lafora disease, interacts with R5 (PTG), a regulatory subunit of protein phosphatase-1 that enhances glycogen accumulation. *Hum Mol Genet*, **12**, 3161-3171.
- Ferrer, J.C., Baqué, S. y Guinovart, J.J. (1997): Muscle glycogen synthase translocates from the cell nucleus to the cytosol in response to glucose. *FEBS Lett*, **415**, 249-252.
- Ferrer, J.C., Favre, C., Gomis, R.R., Fernández-Novell, J.M., García-Rocha, M., Iglesia, N. de la, Cid, E. y Guinovart, J.J. (2003): Control of glycogen deposition. *FEBS Lett*, **546**, 127-132.
- Fillat, C., Rodríguez-Gil, J.E. y Guinovart, J.J. (1992): Molybdate and tungstate act like vanadate on glucose metabolism in isolated hepatocytes. *Biochem J*, **282**, 659-663.
- Friedman, D.L. y Larner, J. (1962): Interconversion of two forms of muscle UDPG-alpha-glucan transglucosylase by a phosphorylation-dephosphorylation reaction sequence. *Biochim Biophys Acta*, **64**, 185-186.
- Ganesh, S., Puri, R., Singh, S., Mittal, S. y Dubey, D. (2006): Recent advances in the molecular basis of Lafora's progressive myoclonus epilepsy. *J Hum Genet*, **51**, 1-8.
- Ganesh, S., Tsurutani, N., Suzuki, T., Hoshii, Y., Ishihara, T., Delgado-Escueta, A.V. y Yamakawa,

- K. (2004): The carbohydrate-binding domain of Lafora disease protein targets Lafora polyglucosan bodies. *Biochem Biophys Res Commun*, **313**, 1101-1109.
- García-Rocha, M., Roca, A., Iglesia, N. de la, Baba, O., Fernández-Novell, J.M., Ferrer, J.C. y Guinovart, J.J. (2001): Intracellular distribution of glycogen synthase and glycogen in primary cultured rat hepatocytes. *Biochem J*, **357**, 17-24.
- Garfinkel, L., Garfinkel, D., Matsiras, P. y Matschinsky, B. (1987): Kinetic properties of hexokinase as assembled with a microcomputer data base. *Biochem J*, **244**, 351-357.
- Gasa, R., Jensen, P.B., Berman, H.K., Brady, M.J., DePaoli-Roach, A.A. y Newgard, C.B. (2000): Distinctive regulatory and metabolic properties of glycogen-targeting subunits of protein phosphatase-1 (PTG, GL, GM/RGI): expressed in hepatocytes. *J Biol Chem*, **275**, 26396-26403.
- Gentry, M.S., Worby, C.A. y Dixon, J.E. (2005): Insights into Lafora disease: malin is an E3 ubiquitin ligase that ubiquitinates and promotes the degradation of laforin. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**, 8501-8506.
- Girard, J., Ferre, P., Pegorier, J.P. y Duee, P.H. (1992): Adaptations of glucose and fatty acid metabolism during perinatal period and suckling-weaning transition. *Physiol Rev*, **72**, 507-562.
- Girard, J.M., Le, K.H. y Lederer, F. (2006): Molecular characterization of laforin, a dual-specificity protein phosphatase implicated in Lafora disease. *Biochimie* (en prensa).
- Girón, M.D., Caballero, J.J., Vargas, A.M., Suarez, M.D., Guinovart, J.J. y Salto, R. (2003): Modulation of glucose transporters in rat diaphragm by sodium tungstate. *FEBS Lett*, **542**, 84-88.
- Goldsmith, E.J., Sprang, S.R., Hamlin, R., Xuong, N.H. y Fletterick, R.J. (1989): Domain separation in the activation of glycogen phosphorylase a. *Science*, **245**, 528-532.
- Gómez-Abad, C., Gómez-Garre, P., Gutiérrez-Delgado, E., Saygi, S., Michelucci, R., Tassinari, C.A., Rodríguez de Córdoba, S. y Serratos, J.M. (2005): Lafora disease due to EPM2B mutations: a clinical and genetic study. *Neurology*, **64**, 982-986.
- Gómez-Ramos, A., Domínguez, J., Zafra, D., Corominola, H., Gomis, R., Guinovart, J.J. y Ávila, J. (2006a): Inhibition of GSK3 dependent tau phosphorylation by metals. *Curr Alzheimer Res*, **3**, 123-127.
- Gómez-Ramos, A., Domínguez, J., Zafra, D., Corominola, H., Gomis, R., Guinovart, J.J. y Ávila, J. (2006b): Sodium tungstate decreases the phosphorylation of tau through GSK3 inactivation. *J Neurosci Res*, **83**, 264-273.
- Gomis, R.R., Cid, E., García-Rocha, M., Ferrer, J.C. y Guinovart, J.J. (2002): Liver glycogen synthase but not the muscle isoform differentiates between glucose 6-phosphate produced by glucokinase or hexokinase. *J Biol Chem*, **277**, 23246-23252.
- Gomis, R.R., Favre, C., García-Rocha, M., Fernández-Novell, J.M., Ferrer, J.C. y Guinovart, J.J. (2003): Glucose 6-phosphate produced by gluconeogenesis and by glucokinase is equally effective in activating hepatic glycogen synthase. *J Biol Chem*, **278**, 9740-9746.
- Gomis, R.R., Ferrer, J.C. y Guinovart, J.J. (2000): Shared control of hepatic glycogen synthesis by glycogen synthase and glucokinase. *Biochem J*, **351**, 811-816.
- Gottlob, K., Majewski, N., Kennedy, S., Kandel, E., Robey, R.B. y Hay, N. (2001): Inhibition of early apoptotic events by Akt/PKB is dependent on the first committed step of glycolysis and mitochondrial hexokinase. *Genes Dev*, **15**, 1406-1418.
- Green, A.R., Aiston, S., Greenberg, C.C., Freeman, S., Poucher, S.M., Brady, M.J. y Agius, L. (2004): The glycogenic action of protein targeting to glycogen in hepatocytes involves multiple mechanisms including phosphorylase inactivation and glycogen synthase translocation. *J Biol Chem*, **279**, 46474-46482.

- Guinovart, J.J., Salavert, A., Massagué, J., Ciudad, C.J., Salsas, E. y Itarte, E. (1979): Glycogen synthase: a new activity ratio assay expressing a high sensitivity to the phosphorylation state. *FEBS Lett*, **106**, 284-288.
- Hanashiro, I. y Roach, P.J. (2002): Mutations of muscle glycogen synthase that disable activation by glucose 6-phosphate. *Arch Biochem Biophys*, **397**, 286-292.
- Horcajada, C., Cid, E., Guinovart, J.J., Verdaguer, N. y Ferrer, J.C. (2003): Crystallization and preliminary X-ray analysis of the glycogen synthase from *Pyrococcus abyssi*. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr*, **59**, 2322-2324.
- Horcajada, C., Guinovart, J.J., Fita, I. y Ferrer, J.C. (2006): Crystal structure of an archaeal glycogen synthase: insights into oligomerization and substrate binding of eukaryotic glycogen synthases. *J Biol Chem*, **281**, 2923-2931.
- Ianzano, L., Zhao, X.C., Minassian, B.A. y Scherer, S.W. (2003): Identification of a novel protein interacting with laforin, the EPM2a progressive myoclonus epilepsy gene product. *Genomics*, **81**, 579-587.
- Iglesia, N. de la, Mukhtar, M., Seoane, J., Guinovart, J.J. y Agius, L. (2000): The role of the regulatory protein of glucokinase in the glucose sensory mechanism of the hepatocyte. *J Biol Chem*, **275**, 10597-10603.
- Iglesia, N. de la, Veiga-da-Cunha, M., Van Schaftingen, E., Guinovart, J.J. y Ferrer, J.C. (1999): Glucokinase regulatory protein is essential for the proper subcellular localisation of liver glucokinase. *FEBS Lett*, **456**, 332-338.
- Ihmels, J., Levy, R. y Barkai, N. (2004): Principles of transcriptional control in the metabolic network of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nat Biotechnol*, **22**, 86-92.
- Ingebritsen, T.S., Foulkes, J.G. y Cohen, P. (1983): The protein phosphatases involved in cellular regulation. 2. Glycogen metabolism. *Eur J Biochem*, **132**, 263-274.
- Itarte, E. y Huang, K.P. (1979): Purification and properties of cyclic AMP-independent glycogen synthase kinase 1 from rabbit skeletal muscle. *J Biol Chem*, **254**, 4052-4057.
- Kanzaki, M. y Pessin, J.E. (2003): Insulin signaling: GLUT4 vesicles exit via the exocyst. *Curr Biol*, **13**, R574-576.
- Kim, Y.B., Peroni, O.D., Aschenbach, W.G., Minokoshi, Y., Kotani, K., Zisman, A., Kahn, C.R., Goodyear, L.J. y Kahn, B.B. (2005): Muscle-specific deletion of the Glut4 glucose transporter alters multiple regulatory steps in glycogen metabolism. *Mol Cell Biol*, **25**, 9713-9723.
- Kirschner, M. y Gerhart, J. (1998): Evolvability. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **95**, 8420-8427.
- Kogure, K., Shinohara, Y. y Terada, H. (1993): Evolution of the type II hexokinase gene by duplication and fusion of the glucokinase gene with conservation of its organization. *J Biol Chem*, **268**, 8422-8424.
- Koch, W.J., Hawes, B.E., Allen, L.F. y Lefkowitz, R.J. (1994): Direct evidence that Gi-coupled receptor stimulation of mitogen-activated protein kinase is mediated by Gβγ activation of p21ras. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **91**, 12706-10.
- Leloir, L.F. y Cardini, C.E. (1957): Biosynthesis of glycogen from uridine diphosphate glucose. *J Am Chem Soc*, **79**, 6340-6341.
- Leloir, L.F., Olavarria, J.M., Goldemberg, S.H. y Carminatti, H. (1959): Biosynthesis of glycogen from uridine diphosphate glucose. *Arch Biochem Biophys*, **81**, 508-520.
- Lohi, H., Ianzano, L., Zhao, X.C., Chan, E.M., Turnbull, J., Scherer, S.W., Ackerley, C.A. y Minassian, B.A. (2005): Novel glycogen synthase kinase 3 and ubiquitination pathways in progressive myoclonus epilepsy. *Hum Mol Genet*, **14**, 2727-2736.

- Majewski, N., Nogueira, V., Bhaskar, P., Coy, P.E., Skeen, J.E., Gottlob, K., Chandel, N.S., Thompson, C.B., Robey, R.B. y Hay, N. (2004): Hexokinase-mitochondria interaction mediated by Akt is required to inhibit apoptosis in the presence or absence of Bax and Bak. *Mol Cell*, **16**, 819-830.
- Malaisse, W.J., Malaisse-Lagae, F., Davies, D.R., Vandercammen, A. y Van Schaftingen, E. (1990): Regulation of glucokinase by a fructose-1-phosphate-sensitive protein in pancreatic islets. *Eur J Biochem*, **190**, 539-545.
- Massagué, J. y Guinovart, J.J. (1977): Insulin control of rat hepatocyte glycogen synthase and phosphorylase in the absence of glucose. *FEBS Lett*, **82**, 317-320.
- Massagué, J. y Guinovart, J.J. (1978): Insulin counteraction of alpha-adrenergic effects on liver glycogen metabolism. *Biochim Biophys Acta*, **543**, 269-272.
- Mayordomo, I. y Sanz, P. (2001): Human pancreatic glucokinase (GlbK): complements the glucose signalling defect of *Saccharomyces cerevisiae* hsk2 mutants. *Yeast*, **18**, 1309-1316.
- Meléndez, R., Meléndez-Hevia, E. y Canela, E.I. (1999): The fractal structure of glycogen: A clever solution to optimize cell metabolism. *Biophys J*, **77**, 1327-1332.
- Minassian, B.A. (2002): Progressive myoclonus epilepsy with polyglucosan bodies: Lafora disease. *Adv Neurol*, **89**, 199-210.
- Minassian, B.A., Lee, J.R., Herbrick, J.A., Huizenga, J., Soder, S., Mungall, A.J., Dunham, I., Gardner, R., Fong, C.Y., Carpenter, S., Jardim, L., Satishchandra, P., Andermann, E., Snead, O.C., 3rd, Lopes-Cendes, I., Tsui, L.C., Delgado-Escueta, A.V., Rouleau, G.A. y Scherer, S.W. (1998): Mutations in a gene encoding a novel protein tyrosine phosphatase cause progressive myoclonus epilepsy. *Nat Genet*, **20**, 171-174.
- Mu, J. y Roach, P.J. (1998): Characterization of human glycogenin-2, a self-glucosylating initiator of liver glycogen metabolism. *J Biol Chem*, **273**, 34850-34856.
- Mulichak, A.M., Wilson, J.E., Padmanabhan, K. y Garavito, R.M. (1998): The structure of mammalian hexokinase-1. *Nat Struct Biol*, **5**, 555-560.
- Muñoz, M.C., Barberà, A., Domínguez, J., Fernández-Álvarez, J., Gomis, R. y Guinovart, J.J. (2001): Effects of tungstate, a new potential oral antidiabetic agent, in Zucker diabetic fatty rats. *Diabetes*, **50**, 131-138.
- Murga, C., Fukuhara, S. y Gutkind, J.S. (1999): Novel Molecular Mediators in the Pathway Connecting G-protein-coupled Receptors to MAP Kinase Cascades. *Trends Endocrinol Metab*, **10**, 122-127.
- Narkewicz, M.R., Lypedjian, P.B., Ferre, P. y Girard, J. (1990): Insulin and tri-iodothyronine induce glucokinase mRNA in primary cultures of neonatal rat hepatocytes. *Biochem J*, **271**, 585-589.
- Newgard, C.B., Brady, M.J., O'Doherty, R.M. y Saltiel, A.R. (2000): Organizing glucose disposal: emerging roles of the glycogen targeting subunits of protein phosphatase-1. *Diabetes*, **49**, 1967-1977.
- Newgard, C.B., Nakano, K., Hwang, P.K. y Fletterick, R.J. (1986): Sequence analysis of the cDNA encoding human liver glycogen phosphorylase reveals tissue-specific codon usage. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **83**, 8132-8136.
- Nuttall, F.Q., Gannon, M.C., Bai, G. y Lee, E.Y. (1994): Primary structure of human liver glycogen synthase deduced by cDNA cloning. *Arch Biochem Biophys*, **311**, 443-449.
- O'Doherty, R.M., Lehman, D.L., Seoane, J., Gómez-Foix, A.M., Guinovart, J.J. y Newgard, C.B. (1996): Differential metabolic effects of adenovirus-mediated glucokinase and hexokinase I overexpression in rat primary hepatocytes. *J Biol Chem*, **271**, 20524-20530.

- Park, J., Hill, M.M., Hess, D., Brazil, D.P., Hofsteenge, J. y Hemmings, B.A. (2001): Identification of tyrosine phosphorylation sites on 3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and their role in regulating kinase activity. *J Biol Chem*, **276**, 37459-37471.
- Pederson, B.A., Cheng, C., Wilson, W.A. y Roach, P.J. (2000): Regulation of glycogen synthase. Identification of residues involved in regulation by the allosteric ligand glucose-6-P and by phosphorylation. *J Biol Chem*, **275**, 27753-27761.
- Perdereau, D., Narkewicz, M., Coupe, C., Ferre, P. y Girard, J. (1990): Hormonal control of specific gene expression in the rat liver during the suckling-weaning transition. *Adv Enzyme Regul*, **30**, 91-108.
- Postic, C., Leturque, A., Printz, R.L., Maulard, P., Loizeau, M., Granner, D.K. y Girard, J. (1994): Development and regulation of glucose transporter and hexokinase expression in rat. *Am J Physiol*, **266**, E548-559.
- Postic, C., Shiota, M., Niswender, K.D., Jetton, T.L., Chen, Y., Moates, J.M., Shelton, K.D., Lindner, J., Cherrington, A.D. y Magnuson, M.A. (1999): Dual roles for glucokinase in glucose homeostasis as determined by liver and pancreatic beta cell-specific gene knock-outs using Cre recombinase. *J Biol Chem*, **274**, 305-315.
- Printen, J.A., Brady, M.J. y Saltiel, A.R. (1997): PTG, a protein phosphatase 1-binding protein with a role in glycogen metabolism. *Science*, **275**, 1475-1478.
- Rabuazzo, A.M., Patane, G., Anello, M., Piro, S., Vigneri, R. y Purrello, F. (1997): Hexokinase shift to mitochondria is associated with an increased sensitivity to glucose in rat pancreatic islets. *Diabetes*, **46**, 1148-1152.
- Roach, P.J. (1990): Control of glycogen synthase by hierarchal protein phosphorylation. *Faseb J*, **4**, 2961-2968.
- Roach, P.J., Cao, Y., Corbett, C.A., DePaoli-Roach, A.A., Farkas, I., Fiol, C.J., Flotow, H., Graves, P.R., Hardy, T.A., Hrubey, T.W. et al. (1991): Glycogen metabolism and signal transduction in mammals and yeast. *Adv Enzyme Regul*, **31**, 101-120.
- Roach, P.J. y Larner, J. (1976): Rabbit skeletal muscle glycogen synthase. II. Enzyme phosphorylation state and effector concentrations as interacting control parameters. *J Biol Chem*, **251**, 1920-1925.
- Salavert, A., Itarte, E., Massagué, J. y Guinovart, J.J. (1979): Multiple phosphorylation of rabbit muscle glycogen synthase by glycogen synthase kinase-1. Relationship between phosphorylation state and kinetic properties. *FEBS Lett*, **106**, 279-283.
- Saltiel, A.R. (2001): New perspectives into the molecular pathogenesis and treatment of type 2 diabetes. *Cell*, **104**, 517-529.
- Seoane, J., Barberà, A., Telemaque-Potts, S., Newgard, C.B. y Guinovart, J.J. (1999): Glucokinase overexpression restores glucose utilization and storage in cultured hepatocytes from male Zucker diabetic fatty rats. *J Biol Chem*, **274**, 31833-31838.
- Seoane, J., Gómez-Foix, A.M., O'Doherty, R.M., Gómez-Ara, C., Newgard, C.B. y Guinovart, J.J. (1996): Glucose 6-phosphate produced by glucokinase, but not hexokinase I, promotes the activation of hepatic glycogen synthase. *J Biol Chem*, **271**, 23756-23760.
- Shiota, C., Coffey, J., Grimsby, J., Grippo, J.F. y Magnuson, M.A. (1999): Nuclear import of hepatic glucokinase depends upon glucokinase regulatory protein, whereas export is due to a nuclear export signal sequence in glucokinase. *J Biol Chem*, **274**, 37125-37130.
- Skurat, A.V. y Dietrich, A.D. (2004): Phosphorylation of Ser640 in muscle glycogen synthase by DYRK family protein kinases. *J Biol Chem*, **279**, 2490-2498.

- Skurat, A.V., Wang, Y. y Roach, P.J. (1994): Rabbit skeletal muscle glycogen synthase expressed in COS cells. Identification of regulatory phosphorylation sites. *J Biol Chem*, **269**, 25534-25542.
- Sprang, S.R., Acharya, K.R., Goldsmith, E.J., Stuart, D.I., Varvill, K., Fletterick, R.J., Madsen, N.B. y Johnson, L.N. (1988): Structural changes in glycogen phosphorylase induced by phosphorylation. *Nature*, **336**, 215-221.
- Sui, D. y Wilson, J.E. (1997): Structural determinants for the intracellular localization of the isozymes of mammalian hexokinase: intracellular localization of fusion constructs incorporating structural elements from the hexokinase isozymes and the green fluorescent protein. *Arch Biochem Biophys*, **345**, 111-125.
- Sutherland, C. y Cohen, P. (1994): The alpha-isoform of glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle is inactivated by p70 S6 kinase or MAP kinase-activated protein kinase-1 *in vitro*. *FEBS Lett*, **338**, 37-42.
- Thorens, B. (2001): GLUT2 in pancreatic and extra-pancreatic gluco-detection (review), *Mol Membr Biol*, **18**, 265-273.
- Tsai, H.J. y Wilson, J.E. (1995): Functional organization of mammalian hexokinases: characterization of chimeric hexokinases constructed from the N- and C-terminal domains of the rat type I and type II isozymes. *Arch Biochem Biophys*, **316**, 206-214.
- Ureta, T., Bravo, R. y Babul, J. (1975): Rat liver hexokinases during development. *Enzyme*, **20**, 334-348.
- Van Biesen, T., Luttrell, L.M., Hawes, B.E. y Lefkowitz, R.J. (1996): Mitogenic signaling via G protein-coupled receptors. *Endocr Rev*, **17**, 698-714.
- Van Schaftingen, E., Veiga-da-Cunha, M. y Niculescu, L. (1997): The regulatory protein of glucokinase. *Biochem Soc Trans*, **25**, 136-140.
- Villar-Palasi, C. (1991): Substrate specific activation by glucose 6-phosphate of the dephosphorylation of muscle glycogen synthase. *Biochim Biophys Acta*, **1095**, 261-267.
- Villar-Palasi, C. y Guinovart, J.J. (1997): The role of glucose 6-phosphate in the control of glycogen synthase. *Faseb J*, **11**, 544-558.
- Viñuela, E., Salas, M. y Sols, A. (1963): Glucokinase and hexokinase in liver in relation to glycogen synthesis. *J Biol Chem*, **238**, 1175-1177.
- Wennstrom, S. y Downward, J. (1999): Role of phosphoinositide 3-kinase in activation of ras and mitogen-activated protein kinase by epidermal growth factor. *Mol Cell Biol*, **19**, 4279-4288.
- Wilson, J.E. (2003): Isozymes of mammalian hexokinase: structure, subcellular localization and metabolic function. *J Exp Biol*, **206**, 2049-2057.
- Wilson, W.A., Skurat, A.V., Probst, B., de Paoli-Roach, A., Roach, P.J. y Rutter, J. (2005): Control of mammalian glycogen synthase by PAS kinase. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**, 16596-16601.
- Woodgett, J.R., Tonks, N.K. y Cohen, P. (1982): Identification of a calmodulin-dependent glycogen synthase kinase in rabbit skeletal muscle, distinct from phosphorylase kinase. *FEBS Lett*, **148**, 5-11.
- Yang, R., Cao, L., Gasa, R., Brady, M.J., Sherry, A.D. y Newgard, C.B. (2002): Glycogen-targeting subunits and glucokinase differentially affect pathways of glycogen metabolism and their regulation in hepatocytes. *J Biol Chem*, **277**, 1514-1523.
- Zvibel, I., Fiorino, A.S., Brill, S. y Reid, L.M. (1998): Phenotypic characterization of rat hepatoma cell lines and lineage-specific regulation of gene expression by differentiation agents. *Differentiation*, **63**, 215-223.

Oda a la farmacia

Pablo Neruda

[*Nuevas odas elementales*, 1956]

Qué olor a bosque
tiene
la farmacia!
De cada
raíz salió la esencia
a perfumar
la paz
del boticario,
se machacaron
sales
que producen
prodigiosos ungüentos,
la seca solfatara
molió, molió, molió
en su molino
y aquí está
junto con la resina
del copal fabuloso:
todo
se hizo cápsula,
polvo,

partícula impalpable,
preservador
principio.
El mortero
machacó diminutos
asteriscos,
aromas,
pétalos de bismuto,
esponjas secas,
cales.
En el fondo
de su farmacia
vive
el alquimista
antiguo,
sus anteojos
encima
de una multiplicada
nariz,
su prestigio
en los frascos,
rodeado
por nombres misteriosos:
la nuez vómica,
el álcali,
el sulfato,
la goma
de las islas,
el almizcle,
el ruibarbo,
la infernal belladona
y el arcangelical bicarbonato.
Luego las vitaminas
invadieron
con sus abecedarios

sabios anaqueles.
De la tierra,
del humus,
brotaron
los bastones
de la penicilina.
De cada
víscera
fallecida
volaron
como abejas
las hormonas
y ocuparon
su sitio en la farmacia.
A medida
que en el laboratorio
combatiendo
la muerte
avanza
la bandera
de la vida,
se registra
un movimiento
en el aroma
de la vieja farmacia:
los lentos
bálsamos
del pasado
dejan
sitio
a la instantánea caja
de inyecciones
y concentra una cápsula la nueva
velocidad
en la carrera

del hombre con la muerte.
Farmacia, qué sagrado
olor a bosque
y a conocimiento
sale
de tus
estanterías,
qué diversa
profundidad de aromas
y regiones
la miel
de una madera,
el purísimo polvo
de una rosa
o el luto
de un veneno.
Todo
en tu ámbito claro,
en tu universidad
de frascos y cajones,
espera
la hora de la batalla con nuestro cuerpo.
Farmacia, iglesia
de los desesperados,
con un pequeño
dios
en cada píldora:
a menudo eres
demasiado cara,
el precio
de un remedio
cierra tus claras puertas
y los pobres
con la boca apretada
vuelven al cuarto oscuro del enfermo,

que llegue un día
gratis
de farmacia,
que no sigas
vendiendo
la esperanza,
y que sean
victorias
de la vida,
de toda
vida
humana
contra
la poderosa
muerte,
tus victorias.
Y así serán mejores
tus laureles,
serán más olorosos tus sulfatos,
más azul el azul de metileno
y más dulce la paz de la quinina.

Discurso de contestación

de la Excma. Sra. Dña. María Teresa Miras Portugal

Excmo. Sr. Presidente,
Excmos. Señoras y Señores Académicos,
Señoras y Señores,

Como miembro de esta Real Academia Nacional de Farmacia del Instituto de España me cabe hoy, y ahora, el privilegiado encargo que representa la contestación al discurso de ingreso como Académico de Número, en tan docta corporación, del Dr. Joan Josep Guinovart Cirera, elegido para llevar la medalla número 40. Resulta especialmente gratificante este honroso cometido, pues aunque la brillante personalidad y logros científicos y académicos del Dr. Guinovart son de sobra conocidos por los aquí presentes, este acto me permite resaltar los méritos que avalan su trayectoria vital y profesional, que me propongo sean absolutamente exactos, aun a sabiendas de mi afecto y gran amistad.

Me uno a la especial mención y recuerdo a sus antiguos maestros bioquímicos y farmacéuticos, Drs. Manuel Rosell Pérez y Vicente Villar Palasí, los dos fallecidos tempranamente, y ambos discípulos y amigos de quien fue entrañable académico y presidente de esta Corporación, don Ángel Santos Ruiz. Poco sería de las Academias si ese recuerdo y respeto a la labor de sus miembros no fuera valorado en toda su extensión, ya que es el único modo de reivindicar lo propio, lo que hace la suma de todos nosotros y de nuestro paso en un tiempo velozmente fugaz. Parafraseando a Javier Marías diría que es el único modo de burlar la «negra espalda del tiempo».

SU TRAYECTORIA VITAL

Permítanme mencionar algunos datos de la biografía del Dr. Guinovart. Nació en Tarragona, el 3 de julio de 1947. Huérfano de padre a la temprana edad de 2 años, su madre, doña Josefa Cirera, Pepi, pues de ese modo cariñoso todos se referían a ella, se hace cargo de gestionar la sala de cine familiar, el Central Cinema, y educar con absoluta entrega a su único hijo.

El Dr. Guinovart relata con ternura cómo controlaba sus deberes escolares, siendo estudiante en el Colegio La Salle de los Hermanos de las Escuelas Cristianas. Deberes que, frecuentemente, hacía en la propia taquilla del cine, y que solamente al acabarlos, doña Pepita, le permitía ver el final de alguna película autorizada. Su patio de juegos era el Foro Romano de la colonia, junto a su casa, donde practicaban el fútbol entre los restos arqueológicos. En sus años de bachillerato comienza la vocación por la Química influido por un profesor inolvidable, don Serafín Sánchez, montando incluso un laboratorio en casa. La elección para realizar los estudios universitarios era difícil; su madre insistió en que estudiara Farmacia, siguiendo los pasos de su tío abuelo, y para no perder opción alguna él decide estudiar ambas licenciaturas, Química y Farmacia, a la vez.

En su trayectoria vital y profesional ha contado con todo el apoyo de otra gran mujer, Rosa Florensa, su esposa y compañera en todas las empresas importantes de su vida, asistente social de profesión hace, en palabras de su esposo, «mucho bien y bien hecho». Es descendiente de una familia de farmacéuticos con más de 300 años de tradición. Se casaron en 1970 y su hija Caterina nació en Estados Unidos en su etapa posdoctoral. Es médico especialista en Salud pública y máster en Epidemiología por la Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres. Trabaja en malaria en el Centro de Medicina Internacional en el Hospital Clínico de Barcelona y el Centro de Investigación asociado en Manhíça (Mozambique), dirigido por el Dr. Pedro Alonso, quien está realizando los ensayos clínicos de una vacuna de la malaria. Ha fundido, pues, la vocación de ciencias de la salud con la dedicación humanitaria.

El Dr. Guinovart, como ya he dicho, estudia al mismo tiempo las dos licenciaturas, la de Ciencias Químicas y la de Farmacia en la Universidad de Barcelona finalizando en 1969, con el título de grado en ambas. Con la dirección del Prof. Manuel Rosell-Pérez realiza el doctorado, en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, leyendo su tesis en 1973, con la calificación de Sobresaliente *cum laude* y obtiene el Premio Extraordinario. Complementa su formación con el título de especialista en Bioquímica Clínica y en Análisis Clínicos. Especialidades siempre unidas a nuestra profesión.

Entre 1974 y 1975 realiza su etapa posdoctoral con una beca de la Comisión Cultural entre España y los Estados Unidos de América. Se traslada a Charlottesville (Estados Unidos), al Departamento de Farmacología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Virginia, al laboratorio de Joseph Lerner, estudiando el mecanismo de acción de la insulina sobre el metabolismo del glucógeno. En ese Departamento ejercía un profesor español con el que trabó una gran amistad, el Dr. Carlos Villar Palasí, hermano de Vicente, y que ha fallecido recientemente. A su regreso a la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, con apenas 28 años, y en posteriores destinos, los mecanismos de acción de la insulina y el metabolismo del glucógeno centrarían la parte más relevante de sus aportaciones científicas y son la señal de continuidad e hilo conductor de sus numerosos trabajos. Su personalidad desbordante consigue atraer a la ciencia e investigación a estudiantes de gran brillantez, que realizan la tesis doctoral bajo su dirección.

Antes de destacar su trayectoria docente e investigadora, permítanme una pequeña pincelada sobre sus aficiones. Apasionado de la lectura me confesó en alguna ocasión que, cuando tenía en marcha varios proyectos simultáneamente, desde la creación de un instituto de investigación, a los comités de gestión de diversas sociedades científicas nacionales y extranjeras, viajando sin cesar, el único modo de relajarse era leer. Reconoce que la saga náutica «Aubrey-Maturin» de Patrick O'Brian es una de sus lecturas favoritas. Le sobrecoge la naturaleza poderosa del sur de Chile y el mar. El Mediterráneo y navegar por sus aguas es su otra gran pasión, bautizó a su barco con un nombre que induce a buscada confusión; se llama *Es sipió*, que

suenan al general romano fundador de Tarragona, pero que en realidad significa en castellano «la pequeña sepia», y es que el humor es una característica del carácter mediterráneo, inquieto y creativo del Dr. Guinovart.

COMENTARIOS A SU TRAYECTORIA DOCENTE E INVESTIGADORA

El Dr. Guinovart, luchador infatigable, ha cumplido con todas las etapas de la carrera docente de nuestro país, cumpliendo el ritual de una estancia posdoctoral en Estados Unidos. A su vuelta a Barcelona fue primero profesor adjunto, luego denominado titular, de Bioquímica de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona desde 1975 hasta 1983, en que se trasladó a la Universidad Autónoma de Barcelona para poner en marcha la enseñanza de la Bioquímica en la recién creada Facultad de Veterinaria, de la que fue vicedecano entre 1984-1987. Impulsó la construcción de las instalaciones de la nueva facultad, donde organizó un fructífero grupo de trabajo, siendo catedrático de la misma desde 1986 hasta 1990, fecha en que opositó a una Cátedra de Bioquímica y Biología Molecular de la División de Ciencias Experimentales de la Universidad de Barcelona, que sigue ocupando. Durante algunos años compaginó la docencia y la labor asistencial, siendo facultativo adjunto de Bioquímica Clínica en el Hospital Príncipes de España de Bellvitge (1978-1980) y posteriormente jefe de Servicio de Análisis Clínicos de la Seguridad Social (1980-1985), estando actualmente en situación de excedencia voluntaria. De la sanidad humana pasó a la sanidad animal, creando y siendo director del Servicio de Bioquímica Clínica Veterinaria del Hospital Veterinario de la Universidad Autónoma de Barcelona (1985-1990), hasta su partida a la Universidad de Barcelona. Así, pues, defendió y luchó por los derechos de la profesión farmacéutica a ejercer en los servicios de análisis clínicos tanto en hospitales de la sanidad pública humana como de la sanidad animal. En el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Barcelona fue director entre 1995 y 2001, dejando este puesto al ser nombrado director general del Parc Científic de Barcelona (2001- 2002) y de su Institut de Recerca Biomèdica – IRB Barcelona (2001-2005). En octubre de 2005 se constituyó el Instituto como Fundación Privada con personalidad jurídica propia, de la

que fue nombrado director. La creación de este Instituto era una de las grandes ambiciones del Dr. Guinovart, conocedor de la necesidad de una masa crítica y de una aproximación multidisciplinaria a la ciencia para que ésta fructifique. No pueden seguir existiendo las barreras entre disciplinas, cátedras, departamentos o facultades si queremos de verdad abordar los problemas y retos que tienen planteadas las ciencias de la vida y la salud. La falta de comunicación entre los investigadores/docentes y sus respectivas disciplinas es uno de los frenos más poderosos al desarrollo de nuestra ciencia y de nuestro país.

El Prof. Guinovart también ha ejercido su labor en el extranjero, como profesor visitante en el Departamento de Bioquímica y Biofísica de la Universidad de California San Francisco-UCSF entre 1992-93. Es, además, miembro de la Facultad Externa del Instituto de Ciencias Biomédicas, Facultad de Medicina, Universidad de Chile desde 1997.

Pero estos datos y estos méritos expuestos, a pesar de su valor, no dan una idea ni siquiera aproximada del tesón y del esfuerzo titánico que tuvo que desarrollar para poder efectuar una docencia y una investigación de calidad. De una pequeña muestra tuve noticia en el XXVII Congreso de la SEBBM celebrado en Lérida en 2004. Un grupo de eminentes científicos, todos ellos discípulos y antiguos doctorandos del Dr. Guinovart, subidos al estrado de la sala principal de conferencias me pidieron que les hiciera una foto juntos. Eran, entre otros, el Dr. Massagué, Académico de Honor de esta Real Corporación; el Dr. Carlos Ciudad, catedrático de la Universidad de Barcelona, y el Dr. Joaquín Ariño, catedrático de la Universidad Autónoma de Barcelona, se la hice y me contaron que era para recordar cuando hacían su tesis en los sótanos de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona, a finales de los años setenta. Recordaban con especial algarabía y jolgorio, riéndose de corazón, de las invasiones de hormigas llegadas de todos los rincones no sólo de Barcelona si no de toda Cataluña para saborear la sacarosa de gran pureza que ellos utilizaban para hacer los gradientes y purificar las fracciones subcelulares. Trabajos pioneros y de gran valor salieron de esos sótanos. Sin duda, los investigadores que sobreviven en similares condiciones son casi indestructibles, no conocen el desánimo,

ni el desaliento y suelen ser supervivientes natos. Estas anécdotas no las he conocido por el Dr. Guinovart sino a través de sus discípulos y ni siquiera como queja, más bien retos o desafíos de necesario vencimiento, o iniciación, en un país hostil con sus científicos. Hasta 26 investigadores han hecho su tesis doctoral con el Dr. Guinovart, y gracias a su esfuerzo, los más jóvenes han disfrutado de unos laboratorios entre los mejor equipados de España y de Europa. De estos 26 doctorandos, además del Dr. Massagué, director del programa de Oncología Molecular del *Sloan Kettering Cancer Center* en Nueva York, los Dres. Ariño, Ciudad y Fátima Bosch son catedráticos, otros tres profesores titulares, otros son responsables en grandes laboratorios y empresas farmacéuticas y, finalmente, otros son investigadores jefes de línea en centros del consejo y hospitales. Ello me hace reflexionar sobre la máxima que ha guiado su criterio al seleccionar a sus colaboradores y la tomaré prestada al eminente científico alemán Gottfried Schatz, quien lo refiere a su propio mentor: «*He who always agrees with you cannot be very bright*» (*Quien siempre esté de acuerdo contigo no puede ser muy inteligente*).

Seguramente, el Dr. Joan Guinovart no recuerda cómo nos conocimos, pero le refrescaré la memoria. Eran unas oposiciones a cátedra de universidad en la vieja Facultad de Químicas de la Universidad Complutense, allí estaban otros muchos que hoy día son catedráticos y compañeros entrañables. Aquellas antiguas oposiciones eran como la antesala del dentista y entre ejercicio y ejercicio, de sus pasillos surgieron amistades y aprecio indestructibles, del Dr. Guinovart me sorprendió su verbo ágil y la lección seleccionada como magistral, nada menos que la «Integración del metabolismo», tema complejo donde los haya y del que salió absolutamente airoso, era el año 1980, ni que decir tiene que tomé notas para mis clases futuras. Indagando un poco, comprendí que su brillantez no era un mero accidente y que detrás de la aparente facilidad con que exponía había mucho esfuerzo y una línea de investigación fructífera y novedosa, con resultados ampliamente reconocidos y difundidos.

De su capacidad de enseñar queda recuerdo indeleble en todos sus discípulos a muchos de los cuales transformó en «convertos a la pasión por la

ciencia». Sin duda que siguió los consejos de Cajal, quien en su libro *Reglas y consejos sobre investigación científica*, señala: «Los que tengáis vocación pedagógica preocupaos seriamente en transformar las cabezas de nuestros hijos en cabezas modernas, acomodadas a la realidad; en personas que sepan mejor las cosas que los libros; antes dispuestos a la acción que a la palabra; capaces en fin, de abordar briosamente la conquista de la Naturaleza. Inculcadles, sobre todo, los métodos de estudio, el arte de pensar por cuenta propia...» Esto es exactamente lo que el Dr. Guinovart pretendía no sólo con sus alumnos de grado y posgrado en la universidad, si no también con los cursos ideados por él y dirigidos a los alumnos de bachillerato. Estos cursos que han reunido y siguen reuniendo a los alumnos más motivados antes de entrar en la universidad se llaman «¿Y tú?: Yo Bioquímica»; y han sido el modo de captar vocaciones para las carreras de ciencias de la vida. Estos cursos han permitido al Dr. Guinovart obtener información de primera mano sobre las motivaciones y los resortes que mueven a nuestros jóvenes antes de comenzar la universidad y han sido recogidos y publicados en la revista *Biochemical and Molecular Biology Education*.

Después de ser testigo de la respuesta de nuestros jóvenes, estoy convencida que el éxito o el fracaso de las políticas y leyes universitarias depende no tanto de la bondad o maldad de la ley, si no de mantener la calidad y la ilusión del profesorado, de la generosidad y superioridad del elemento humano.

De su extenso currículum investigador destacaré solamente algunos aspectos. Su actividad investigadora ha estado centrada en el metabolismo del glucógeno, con énfasis en el estudio de las alteraciones del metabolismo hepático de los carbohidratos en la diabetes y en la búsqueda de nuevos agentes antidiabéticos. La importancia de su trabajo se ha visto premiada con la concesión de prestigiosos galardones de investigación, entre otros los premios: Leandre Cervera (1979 y 1985) y August Pi i Sunyer (1983) del Institut d'Estudis Catalans; el Premio Novo-Nordisk en Investigación Diabetológica Básica de la Sociedad Española de Diabetes (1996); la Medalla de la Société Française de Biochimie et Biologie Moléculaire (1998); el Premio de Investigación Científica Ciudad de Barcelona (1998); el Premio Conferencia PABMB, en San Francisco (1999); la Medalla Narcís Monturiol de la Gene-

ralitat de Catalunya al mérito científico y tecnológico (1999); la placa de la Conferencia Alberto Sols (2000) Viña del Mar, Chile y, finalmente, ha sido nombrado Socio de Honor de la SEBBM (2005), y miembro correspondiente de la Academia de Ciencias de Chile (2005). Ha sido editor de cuatro libros, uno de ellos de la editorial Springer-Verlag y otro de la editorial Masson. Ha publicado 15 capítulos de libros, ocho de ellos en editoriales internacionales.

De sus publicaciones científicas destacar que son más de 118, de las cuales más de 100 en revistas de alto nivel, destacando sus 17 artículos en el *Journal of Biological Chemistry* (JBC); 18 artículos en *Biochemical Journal*; más de 24 en *FEBS Letters*, y otros muchos en *Cancer Research*, *Diabetes USA*, *FASEB Journal*, *European Journal of Biochemistry*, *Endocrinology*, *Proteomics*, etc.

Ha disfrutado de 32 proyectos nacionales subvencionados como investigador principal y de otros muchos internacionales, destacando ayudas del comité conjunto hispano-norteamericano, acciones integradas hispano-francesas, hispano-italianas e hispano-alemanas. Entre los años 1993-1996 actúa de coordinador de un proyecto europeo del *Human Capital and Mobility Programme*. Mantiene también productivas colaboraciones con grupos franceses, británicos, estadounidenses y chilenos. Ha sido conferenciante invitado en congresos nacionales e internacionales en más de 36 ocasiones.

El Dr. Guinovart ha realizado una intensa actividad editorial siendo miembro del *editorial board* de revistas internacionales como *The Biochemical Journal* y revisor habitual de revistas como *American Journal Physiology*, *Biochim. Biophys. Acta*, *Biochemical Journal*, *Diabetes USA*, *Diabetología*, *European Journal of Biochemistry*, *FEBS Letters* y *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, entre otras.

Tampoco ha sido ajena a su actividad el servicio a organismos públicos de carácter científico, como los siguientes: coordinador del área de Biología Molecular y Celular de la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva-ANEP (1988-1991); miembro de ponencias de la DGICYT (1988-1991), el FIS

(1988-1997) y el CICYT (Programa Nacional de Salud) (1997); miembro del Comité Asesor de la Dirección General de Política Científica del Gobierno Vasco (1990-1992, 1994-1997); miembro de la Comisión de Ciencias Básicas y Laboratorios Clínicos del CCECS, Generalitat de Catalunya (1993-2003), y miembro de la Comisión Asesora de Ciencia y Tecnología de la Generalitat de Catalunya (1999-).

Las actividades en sociedades científicas, como modo de vertebrar la sociedad y estimular el interés por la ciencia y el progreso, han sido también objeto de la preocupación y dedicación del Dr. Guinovart. De ello doy fe ya que en 1996 me convenció para ser secretaria de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM). Compartíamos ideas e ilusiones, la importancia de la ciencia de calidad sobre el ornato y los actos banales, la importancia de alcanzar una masa crítica, y de atraer a los jóvenes para poder pasarles la antorcha. La sociedad pasó de tener 1500 socios en 1996 a casi tres mil cuando finalizó su mandato, y actualmente son más de 3500 los miembros de la SEBBM. Fomentó y estrechó las relaciones con Iberoamérica al incluir en los congresos de la SEBBM la Conferencia Luis Leloir, de intercambio con Argentina, y la Conferencia H. Niemyer, de intercambio con Chile. Como resumen, decir que ha ocupado los siguientes cargos: presidente de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM) (1996-2000); presidente del Comité Organizador del Congreso Europeo de Bioquímica (FEBS 1996, Barcelona); miembro del Comité Ejecutivo de la Federación Europea de Sociedades de Bioquímica (FEBS) (1997-2005); miembro de los Comités de Educación (2000-2006), de Nominaciones (2000-2003) y de cursos y simposios (2006-) de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB); miembro de la Comisión Nacional de ICSU y presidente del Comité Nacional IUBMB (2005-), y presidente de la Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE) (2004-).

Especial mención merece su labor como editor del *Boletín de la SEBBM*, que con su batuta se ha convertido en el órgano de opinión de los responsables de las estructuras científico-docentes, tanto en el poder como en la oposición, y de todos aquellos preocupados por los avatares a los que están sometidos los científicos y docentes en tan movedizas estructuras. Como

presidente de la COSCE, pilotó la *Acción CRECE* (Comisiones de Reflexión y Estudio de la Ciencia en España), un conjunto de propuestas de la comunidad científica para mejorar y potenciar el sistema español de investigación y desarrollo.

Tal vez de modo inconsciente, el Dr. Guinovart en el desarrollo de su labor investigadora, docente, de impulso a las sociedades científicas y en la creación de asociaciones, capaces de entenderse y adaptarse a los nuevos tiempos, siguió los pasos del gran poeta catalán Joan Maragall, quien en un hermoso poema donde ensalza a la sardana dice que es «[...] *la danza más bella de cuantas se trenzan y van destrenzando; [...] que obedecen al símbolo oculto del círculo ancho que los va hermanando*[...]. *Cada mano, al soltar a la amiga, parece decirle que la está esperando*». Sólo así sintiéndose parte de un colectivo que ama la ciencia y el conocimiento, donde no sobra nadie, se pueden aunar voluntades y hacer frente a los retos del futuro.

Pero permítanme que trate de destacar la última faceta de su currículum investigador, en 1994 hace un descubrimiento sorprendente del que deja constancia en una publicación en JBC («*Insulin-like actions of tungstate in diabetic rats: normalization of hepatic glucose metabolism*», *J Biol Chem* 1994; 269: 20047-20053). En este artículo demuestra que el wolframato (tungstato) tiene unas acciones insulinomiméticas sobre el metabolismo de la glucosa hepática. A partir de ese momento y gracias a una patente que realiza la Universidad de Barcelona, la empresa Química Farmacéutica Bayer se interesa por el descubrimiento, adquiere los derechos (hay que hacer constar que fue la primera patente vendida por la Universidad de Barcelona en toda su historia) y realiza los estudios del posible empleo de los compuestos de wolframio (VI) en el tratamiento de la diabetes, los cuales han completado la fase I de ensayos clínicos. Otras dos patentes importantes relacionadas son la titulada «*Composiciones orales para el tratamiento de humanos obesos y no diabéticos*», cuyos derechos también fueron adquiridos por Química Farmacéutica Bayer; y la otra «*Composiciones farmacéuticas para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y otras tauopatías*». Esta faceta de inventor es importante, pues crea riqueza y

libera de dependencia a las generaciones futuras. Dejaré que sean las palabras de Santiago Ramón y Cajal, las que hablen por mí: *«Considerad que cada idea nueva, no contrapesada por otra nacida entre nosotros, es un eslabón más de nuestra servidumbre mental, es una contribución que debemos pagar con oro, y que será cobrada perpetuamente fuera de nuestras fronteras. Porque toda servidumbre intelectual tiene por salario el oro del rico o la fatiga del pobre...»*.

COMENTARIOS A SU DISCURSO DE INGRESO

En su discurso de ingreso, el Dr. Guinovart nos ha mostrado su amplia experiencia y conocimiento en un tema de gran trascendencia para esta Real Academia Nacional de Farmacia, que no es otro que la importancia de la investigación básica como etapa indispensable en el desarrollo de nuevos fármacos, así pues el tema escogido, titulado *De la investigación básica al descubrimiento de fármacos*, es el más adecuado aquí y ahora.

Ha quedado claro en su discurso que desde sus comienzos la industria farmacéutica se ha nutrido de los descubrimientos académicos. Aunque en un principio fueron las universidades a través de sus departamentos de Química Orgánica y Análisis Químico las que promovieron el estudio de sustancias que, posteriormente, eran empleadas en estudios farmacológicos, pronto se observó que el gran volumen de recursos necesarios para tales estudios requería otro tipo de estructuras y financiación más abundante. Generalmente fueron las compañías dedicadas a la producción y comercialización de productos químicos las que se hicieron cargo, entre finales del siglo XIX y principios del XX, del desarrollo y búsqueda de principios activos farmacológicos, como fue el caso de las empresas dedicadas a la síntesis de tintes industriales, o a la producción de sosa cáustica y lejías. Pero no conviene olvidar que la gran mayoría de las ideas clave que revolucionó la farmacología surgió de los ambientes universitarios y centros de investigación estatales, donde se primó la novedad y originalidad de los conceptos, así como el desarrollo de métodos de análisis e interpretación de datos.

El desarrollo sistemático de la farmacología comienza a mediados del siglo XIX, gracias al esfuerzo de las escuelas de farmacología alemana y francesa que inician el estudio de los efectos de sustancias medicinales extraídas de plantas y parcialmente purificadas. Es de destacar la Escuela de Oswald Schmiedeberg en Estrasburgo, que desarrolla su labor entre el último cuarto del siglo XIX y los primeros 20 años del XX. También en Estrasburgo inició sus estudios Paul Ehrlich, a quien debemos el concepto más fructífero de la farmacología, el concepto de *receptor*, que él postuló hacia 1872 trabajando con diferentes colorantes y observando la mayor o menor «avidez» (hoy en día definida como «afinidad») con que se unían a distintas estructuras celulares. El pleno desarrollo de este concepto llevó a la búsqueda de los receptores para las sustancias activas conocidas y, posteriormente, para los compuestos aislados del propio organismo, como las diferentes hormonas, neurotransmisores, etc.

El concepto de la producción de sustancias tóxicas entre microorganismos, denominadas *antibióticos*, concebida por Alexander Fleming en 1929 y el éxito de H. Florey y E. Chain hasta llegar a la cristalización de la penicilina a partir del hongo filamentoso, *Penicillium*, en 1938, supuso un largo camino y el inicio de la etapa más exitosa para combatir las enfermedades infecciosas bacterianas.

Estos avances conceptuales y el desarrollo de nuevos fármacos necesitaron herramientas de análisis e interpretación de los datos obtenidos para evaluar correctamente y comparar los efectos de los diferentes compuestos. El concepto de dosis terapéutica y letal y las representaciones gráficas y desarrollo matemático de la relación «dosis/efecto» fueron, de nuevo, la conquista de magníficos docentes e investigadores universitarios.

Actualmente son varios miles de fármacos los que han sido autorizados para uso terapéutico, y se pueden agrupar según el tipo de dolencia para la que son empleados. Si analizamos los medicamentos más vendidos en España, nos damos cuenta de la importancia que tienen, en primer lugar, el grupo de los analgésicos, antiinflamatorios no esteroideos (AINE) y antipiréticos, lo que nos demuestra que el dolor se evita siempre que se puede. Otro gran

grupo lo constituyen los medicamentos destinados a alterar nuestra percepción y relación con el entorno social y laboral, y son los destinados al tratamiento de la ansiedad con los ansiolíticos y el tratamiento de la depresión con los antidepresivos. Tampoco podemos descuidar, por su importancia, el gran grupo de los empleados en el tratamiento de la úlcera o disfunciones gástricas, los antiácidos (que, en muchos casos, es consecuencia del estrés) y, además, los medicamentos destinados a tratar los problemas de reacciones alérgicas de todo tipo, incluidos los antiasmáticos, que se incrementan de modo alarmante debido a los problemas medioambientales. Finalmente, la obesidad es el gran problema de este comienzo de siglo y está en el origen de otras muchas patologías. Como vemos, la farmacología tiene que acudir en auxilio no sólo de problemas presentes desde antaño, inherentes a la propia naturaleza humana, o de animales a nuestro cuidado, sino también a los de una sociedad que entre todos hemos creado.

No podemos ignorar que, socialmente, existe un gran interés por las compañías farmacéuticas y las macrocifras económicas que manejan, lo que hace que despierten, a veces, inquietudes por los puestos laborales, o centros de investigación que pueden desaparecer cuando se fusionan. No obstante, últimamente, los efectos secundarios de los fármacos y las indemnizaciones millonarias a las que han tenido que hacer frente algunas compañías han salido a la luz en revistas científicas especializadas y también en periódicos no especializados, diarios nacionales, semanarios, etc. Uno de los que levantó más alarma ocurrió en el verano del año 2001, cuando se revelaba la toxicidad muscular y renal del Lipobay, que contenía la cerivastatina, sustancia inhibidora de la síntesis del colesterol al nivel del enzima regulador de la vía de síntesis, la β -hidroxi, β -metil glutaril CoA reductasa (β H- β MGCoA reductasa o HMGCoA reductasa). Una situación similar surge en el año 2004, cuando cunden las primeras voces de alarma por los efectos secundarios del antiinflamatorio Vioxx, que contiene como principio activo el rofecoxib, potente y selectivo inhibidor del enzima ciclooxigenasa 2, COX-2. Su eficacia probada en el tratamiento de la artritis y el dolor debido a procesos inflamatorios crónicos se encuentran en entredicho por la mayor incidencia de problemas cardiovasculares, como infartos de miocardio o ic-

tus cerebral, que se aprecian en el tratamiento a largo plazo. Este es uno entre muchos ejemplos que ilustran la importancia de realizar buenos ensayos clínicos de los fármacos antes de ser comercializados y la necesidad de emplear modelos animales más complejos, o animales genéticamente modificados, para garantizar la seguridad de los medicamentos antes de su aplicación a humanos.

Es también cada vez más frecuente que compañías farmacéuticas poderosas emprendan acciones legales en los tribunales contra modestos o afamados farmacólogos básicos o clínicos, que se atreven a poner en duda alguna de las bondades de los fármacos comercializados, o denuncian sus efectos secundarios. De igual modo, actualmente se discute el modo en que se han realizado algunos de los ensayos de fármacos en la última fase de experimentación, conocida como fase III, o fase clínica. Otra área de debate es la receta masiva de algunos fármacos de alto coste, cuyos beneficios son escasos, pero que ayudan a depauperar las arcas de la sanidad pública. Esto no desacredita la bondad de multitud de fármacos, que han sido y son ampliamente utilizados, y que, cuando son necesarios, son una conquista del género humano para nuestra salud y bienestar, pero debe de hacernos prudentes y rigurosos en la evaluación de los beneficios que pueden aportar los más recientes y novedosos.

Un listado de los 500 fármacos más empleados en la actualidad muestra que no sólo los receptores, sino también los enzimas, las proteínas transportadoras, los canales, el DNA etc., son dianas de sustancias empleadas en farmacología. Se puede estimar que un 45 % de los fármacos actúan sobre receptores, el 28 % sobre enzimas, un 11 % son de naturaleza hormonal, sobre canales iónicos actúan un 5 %, sobre factores nucleares otro 2 %, sobre DNA 2 % y un 7 % actúan de modo desconocido, reduciéndose este grupo de modo paulatino. Desde el punto de vista de las ventas y beneficios, son las dianas enzimáticas las que reportan más dividendos.

La búsqueda de fármacos con menores efectos secundarios, o para el tratamiento de nuevas dolencias, o de las dolencias clásicas, pero con abordajes alternativos, requiere la búsqueda de nuevos fármacos o nuevas

dianas que puedan ser objeto de la farmacología. El desarrollo de fármacos potencialmente utilizables es extraordinariamente costoso y, en general, se hace a expensas de las compañías farmacéuticas, lo que es un dato a tener siempre en cuenta. Los fármacos nuevos que salen cada año al mercado tienen que pasar una serie de controles y existen diversas agencias del medicamento que tienen que otorgar la aprobación en los respectivos países. En Estados Unidos es la *Food and Drug Administration* (FDA). La Unión Europea, a imitación de su homóloga americana, ha creado la Agencia Europea del Medicamento (EMA). En estos últimos años, un promedio de 30 nuevos fármacos/año han sido aprobados en Estados Unidos, mientras que en Europa han sido unos 16 nuevos fármacos/año. A pesar de que el gasto en investigación farmacéutica se ha incrementado, el número de nuevos fármacos aceptados se ha ido reduciendo; las razones estriban en el mayor número de controles y ensayos de posibles efectos secundarios requeridos para ser aceptados por las respectivas agencias. A pesar de todos estos controles son muchos los fármacos novedosos que una vez comercializados han tenido que ser retirados del mercado por sus efectos secundarios, o restringido su uso a unos determinados grupos de la población.

La búsqueda de nuevas dianas farmacológicas se ha intensificado con los datos aportados por la secuenciación del genoma humano, que ha demostrado la existencia de múltiples receptores acoplados a proteínas G que son huérfanos; de igual modo se ha visto que existen múltiples receptores o moduladores de la expresión a nivel de núcleo que están por definir. Pero igualmente útiles están resultando los nuevos enfoques del metabolismo con el desarrollo de la metabolómica y sus diferencias entre especies, sin olvidar el desarrollo de la proteómica y de las técnicas para conocer las interacciones de proteínas a nivel subcelular. En la actualidad existen grandes centros de investigación de genómica y proteómica, tanto públicos como privados, dirigidos al estudio del genoma y de la estructura tridimensional de proteínas que son esenciales en el desarrollo racional de fármacos.

Enfermedades con gran incidencia a escala mundial, pero propias de países con escasos recursos, como es el caso de la malaria, requieren la búsqueda de dianas terapéuticas y el desarrollo de fármacos. Referente a la tubercu-

losis, el número de casos se ha incrementado, debido al aumento de bolsas de pobreza en países desarrollados, además de la ya existente en los países más pobres y también a que los inmunodeprimidos, como consecuencia de la enfermedad del sida, adquieren la enfermedad con mayor facilidad. Un caso diferente, pero relacionado con la adicción a drogas y su administración por vía parenteral, es el incremento de casos de infecciones fúngicas en el sistema vascular y, en general, en el organismo después de cirugía traumática. Otras patologías asociadas con el subdesarrollo son la tripanosomiasis y la leishmaniasis. En todos estos casos se trata de buscar diferencias entre los enzimas de rutas metabólicas esenciales, o rutas que sean peculiares y exclusivas del agente infeccioso, para poder actuar de modo específico. El poco interés mostrado por las compañías farmacéuticas, debido al escaso beneficio económico esperable, ha obligado a los países desarrollados a incentivar proyectos concertados con capital público y privado, además de aportes de fundaciones sin ánimo de lucro, para buscar soluciones innovadoras a las enfermedades asociadas a la pobreza, como es el loable empeño de la Fundación Bill y Melinda Gates.

Entre los campos más exitosos en la búsqueda de nuevas dianas farmacológicas están los enzimas implicados en cascadas de señalización intracelular, y sus vías de retorno, donde se encuentran multitud de familias de quinasas y fosfatasas intracelulares y sus proteínas de reconocimiento. Con este enfoque se han desarrollado nuevos citostáticos valiosos para el tratamiento del cáncer, así como otros nuevos en el tratamiento de diversas dolencias, como el asma, impotencia, memoria y enfermedades cardiovasculares. No olvidemos, hablando de quinasas y fosfatasas, que, como muy bien nos ha recordado el Dr. Guinovart, el woframato sódico actúa inactivando algunas proteína quinasas, entre ellas la serina/treonina quinasa denominada glucógeno sintasa quinasa-3, GSK-3. Enzima clave en la regulación del metabolismo del glucógeno, que al estar inhibido no puede actuar sobre la glucógeno sintasa y fosforilarla. La glucógeno sintasa está sometida a múltiples señales de regulación, entre ellas la fosforilación por GSK-3, la forma no fosforilada del enzima es más activa lo que permite que se forme el glucógeno de modo más eficaz, evitando la acumulación de glucosa en la sangre.

Un elemento de reflexión con fuertes dosis de humildad lo ha supuesto el hecho de que la glucógeno sintasa puede localizarse en el núcleo y su función está por definir, pero a semejanza de otro enzima del metabolismo glucídico, en la vía glucolítica, la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenada (G3PDH), es muy posible que medien en expresión de genes y su regulación, dependiendo de la alimentación y situaciones celulares comprometidas. La naturaleza ha vuelto a demostrarnos que, incluso de lo que supuestamente éramos conocedores bien documentados, sólo habíamos arañado la superficie del problema y del conocimiento.

Una idea de la necesidad de investigación básica la da el hecho de que la GSK-3, identificada en el metabolismo del glucógeno, es de hecho un cruce de caminos de regulación metabólica, reestructuración del citoesqueleto, y señalización a núcleo, lo que permite la diferenciación y el mantenimiento celular. También la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK-3), puede asociarse con la proteína p53, una proteína supresora de tumores y favoreciendo su acción apoptótica sobre células alteradas. En el sistema nervioso, este enzima cobra nuevos bríos y salta del más clásico metabolismo glucídico de los libros de texto, a los altos vuelos del mantenimiento de la citoarquitectura neural, ya que entre sus sustratos se encuentra la proteína tau, que estabiliza el citoesqueleto de tubulina, los microtúbulos. Existen seis isoformas de tau, todas ellas procedentes de un procesamiento alternativo de un único gen. La acumulación de tau hiperfosforilada origina los ovillos neurofibrilares presentes en el interior de las neuronas en la enfermedad de Alzheimer. Curiosamente portadores de mutaciones en el gen *tau* no suelen padecer Alzheimer y sí otro tipo de demencias, como la frontotemporal. La acumulación de ovillos neurofibrilares es prominente en los portadores de la mutación, pero normalmente no se desarrollan placas de amiloide.

La pregunta era si existía una conexión entre los ovillos acumulados dentro y las placas de amiloide formadas fuera de la neurona en la enfermedad de Alzheimer. La conexión ha resultado ser el enzima GSK-3, justamente el enzima inhibido por el wolframato. Lo sorprendente es que la propia proteína precursora de amiloide APP es un sustrato de este enzima, siendo la forma fosforilada de APP en el carboxilo terminal, la que le permite

asociarse al complejo de la γ -secretasa, en donde las preselininas, enzimas de una nueva familia de aspartil-proteasas, actúan de modo más eficiente en la hidrólisis de APP para producir los péptidos AB-40 y el AB-42 que es el amiloidogénico. Una inhibición de este enzima ralentizaría la formación de los péptidos amiloides, de ahí la importancia de conocer en profundidad las posibilidades de la GSK-3 como diana farmacológica y la relevancia que abre la contribución del Dr. Guinovart, en colaboración con el Dr. Jesús Ávila, de reciente aparición en el *Journal of Neuroscience Research* («*Sodium tungstate decreases the phosphorylation of tau through GSK3 inactivation*», *J Neurosc Res* 2006; 83: 264-273). Recientemente, el grupo del Dr. Ávila ha realizado una importante contribución en este área, demostrando que los síntomas de Alzheimer se pueden revertir en un ratón, con sobreexpresión condicionada de la GSK3.

Otra vuelta de tuerca es que el wolframato podría emplearse para el tratamiento de la obesidad, como queda reflejado en un reciente artículo del Dr. Guinovart, en colaboración con el Dr. Ramon Gomis, en el que demuestra que ratas obesas aumentan la termogénesis y oxidación de lípidos al ser tratadas con este compuesto («*Tungstate decreases weight gain and adiposity in obese rats through increased thermogenesis and lipid oxidation*», *Endocrinology* 2005; 146: 4362-4369).

No sabemos cómo serán los alimentos ni su abundancia en el futuro, y es difícil predecir y adivinar. Es posible que tengamos que readaptar nuestro metabolismo a otros alimentos y necesidades. Por ello es interesante la opinión de un doctor en Bioquímica y maestro de ciencia ficción, Isaac Asimov. Este autor, en una de sus novelas describe la posible situación en un no muy lejano futuro en las ciudades extraterrestres, en la respuesta a la anfitriona realizado por el visitante: « – *Parece bastante similar a la comida de la ciudad de la Luna, señora Bergen, y he sido criado a base de ella. Cultivamos nuestros propios alimentos microorganismicos. Comerlos es un acto de patriotismo, pues no resulta particularmente placentero...*».

El descubrimiento de la familia de los factores de crecimiento relacionados con insulina, los IGF, I y II, y la propia proinsulina, su presencia necesaria para

el desarrollo del sistema nervioso, así como la amplia variedad de receptores que median la transducción de señal fueron pruebas evidentes de que apenas habíamos abierto la página de la historia de insulina y familia, a la que ha aportado importantes contribuciones la Dra. De Pablo.

La importancia de la insulina no deja de crecer y sus funciones sobre el metabolismo y el crecimiento en general han sido ahora completadas con sus efectos a nivel del sistema nervioso central. El bloqueo de los genes de la insulina y de los IGFI e IGFI^{II} demostró que todos ellos se expresaban en diferentes neuronas del sistema nervioso central. En estudios adicionales, los investigadores descubrieron que una disminución en la producción de insulina cerebral contribuye a la degeneración de las neuronas con síntomas de Alzheimer temprano; estas anormalidades que no se corresponden con las diabetes tipo I y tipo II, podrían reflejar una enfermedad más compleja y distinta que se origina en el sistema nervioso. En estudios *post mortem* en pacientes con la enfermedad de Alzheimer se observó que los niveles de insulina e IGFI estaban muy disminuidos en el córtex frontal, hipocampo e hipotálamo, mientras que el cerebelo (que no se ve afectado en la enfermedad de Alzheimer) no presentaba una clara disminución de los niveles.

Recientemente se ha acuñado el término de diabetes tipo III, para la enfermedad de Alzheimer y será necesario conocer hasta qué punto esta enfermedad se podría explicar como una alteración más del metabolismo y el desarrollo. No escapa a esta audiencia que las posibilidades farmacológicas de administración de péptidos y proteínas para alcanzar las zonas específicas de cerebro están en la etapa pre-Atapuerca, aunque se intuye la importancia que tendrá en el futuro la vía nasal.

Como colofón a este apartado, el desarrollo de fármacos eficaces ha requerido y requerirá del esfuerzo continuo de los científicos y los aportes económicos de la industria farmacéutica. La utilización justificada de los fármacos ha supuesto una considerable mejora en la calidad de vida humana y es una herramienta para nuestra salud. No obstante, estamos asistiendo últimamente a una utilización abusiva y sistemática de los fármacos, incluso con fines no terapéuticos, lo que hace plantear el dilema y la división

entre dos conceptos que parecían lo mismo: el del conocimiento frente al de sabiduría. Expuesto con toda claridad en el juicio de Salomón. Hoy día pediríamos un análisis de DNA para entregar el niño a la madre biológica, eso es conocimiento; pero sabiduría es saber quién lo ama. Sin duda, disponemos de múltiples fármacos para tratar todo tipo de síntomas y causas de enfermedades, de las cuales tenemos un conocimiento bastante exacto, pero no siempre lo basado en el conocimiento es acertado y hay muchas más cosas en la sociedad humana que definen la sabiduría. Estos aspectos habrán de ser tenidos en cuenta cuando se administran múltiples fármacos, o en situaciones llevadas al límite. Los aspectos éticos no son ajenos a la farmacología y es donde el sólido conocimiento de la materia necesitará el complemento de la sensatez.

CONSIDERACIÓN FINAL

He tratado de exponer ante ustedes los méritos que concurren en el Dr. Joan J. Guinovart Cirera; quisiera, y espero, que esta presentación mía haya sido oportuna y objetiva. No obstante, desearía informar a unos y recordar a otros, que a sus dotes de investigador y creador de escuela científica une inmejorables cualidades: es cortés, entusiasta, perseverante, innovador, inconformista... parece que su corazón y su mente han hecho un pacto de eterna juventud con la ilusión por el progreso de la ciencia y su traspaso a la sociedad.

Es seguro que Joan J. Guinovart Cirera sabrá, en todo momento, andar un camino académico seguro, brillante y solidario en esta Real Academia Nacional de Farmacia y es para mí un honor, en nombre de todos, desearle que su andadura sea continuada, larga, fértil y venturosa.

He dicho.

Madrid, 26 de octubre de 2006

