

INSTITUTO DE ESPAÑA
REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA

**LA ALBÚMINA SÉRICA:
UNA POSIBLE ARMA TERAPÉUTICA
EN LA ENFERMEDAD DE ALZHEIMER
Y EN EL SÍNDROME DE DOWN**

Discurso del

EXCMO. SR. D. JOSÉ MARÍA MEDINA JIMÉNEZ

leído en la sesión del día 20 de octubre
de 2011 para su ingreso como
Académico de Número

y contestación del

EXCMO. SR. D. FEDERICO MAYOR ZARAGOZA



MADRID, 2011

Printed in Spain. Impreso en España
Depósito legal: S. 1436-2011

GRÁFICAS CERVANTES, S.A.
Ronda de Sancti-Spíritus, 9-11
37001 SALAMANCA

PREÁMBULO

*¡Oh alegría, bella chispa de los dioses, hija del
Elíseo! Nosotros entramos a tu santuario ardiendo en
fuego divino. Un poder mágico reúne a los que el
rango y el mundo han separado; bajo la sombra de
tus suaves alas todos los hombres se hacen hermanos.*

Excelentísima Señora Presidenta
Excelentísimas Señoras y Señores Académicos
Ilustrísimas Autoridades
Señoras y Señores

Estoy seguro de que todos ustedes habrán reconocido las primeras estrofas de la “Oda a la alegría” de Friedrich von Schiller. Estos versos, que de por sí provocan la alegría, ese estado que transitoriamente nos eleva por encima de nuestra condición biológica, esa emoción que nos iguala momentáneamente a los dioses. Pero inmediatamente vendrán conmigo lo excepcional e infrecuente de esta sensación, al tratarse de una manifestación instantánea y fugaz de la utópica y perseguida felicidad.

Sin embargo, esto es lo que siento ahora, en este momento, alegría por haber sido aceptado entre los pares de mi amada profesión, alegría por considerar que mi trabajo ha merecido su reconocimiento, alegría porque voy a pertenecer a este exclusivo círculo que reúne a los que han destacado

en el estudio de las ciencias que mantienen y enaltecen a la Farmacia. Comienzo estas palabras, por consiguiente, agradeciendo a los miembros de esta corporación la confianza que han depositado en mí y que devolveré con diligente colaboración y franca amistad.

Porque la “Oda a la alegría” de Schiller continúa:

Aquel que tiene la felicidad de llegar a ser el amigo de un amigo...

Y esto es lo que quiero llegar a ser de cada uno de ustedes, para que el espíritu de colaboración que nace de la amistad contribuya al enaltecimiento de esta institución, de manera que la sociedad reconozca en ella su verdadero designio, como es el de contribuir a la mejora de su condición más deseada, es decir, la de la salud.

Y es motivo de alegría recordar hoy, aquí, a mi predecesor en la medalla que hoy recibo, el Profesor Gregorio Varela. Porque, señoras y señores académicos, queridos amigos, no he necesitado consultar archivos ni hemerotecas para glosar su figura. Tuve el honor y la satisfacción de ser alumno suyo en la Facultad de Farmacia de Granada y, posteriormente, me honró con su afecto y amistad. Recuerdo su provocadora forma de enseñar la fisiología, con aquellos dibujos del corazón en forma de un cuadrado perfecto, cruzado por los tabiques aurículo-ventriculares, que sólo se interrumpían por esquemáticos portillos que representaban las válvulas mitral y tricúspide. Sin contar con su entusiasmo, casi obsesivo, por la nutrición como un elemento clave en la terapéutica de las enfermedades metabólicas. Retrospectivamente, sus afirmaciones, que entonces nos parecían exageradas, han resultado premonitorias vista la sociedad actual perseguida por la diabetes y la obesidad.

Y continuando con los motivos que generan hoy en mí esta “chispa de los dioses” con la que Schiller define la alegría, convendrán conmigo el honor y la satisfacción que supone haber contado con el aval de los Profesores Juan Ramón Lacadena, Julio Rodríguez Villanueva y Federico Mayor Zaragoza para mi solicitud de ingreso en esta corporación.

Contar con el aval del Profesor Juan Ramón Lacadena es para mí un especial motivo de satisfacción, pues siempre he admirado su profundo conocimiento de la Genética, el cual transmite con una serena y madura seguridad, que proviene de esa humildad que sólo los verdaderos científicos sienten hacia la Naturaleza y sus escondidos misterios. Gracias al Profesor Lacadena he visto en los genes algo más que una sucesión bioquímica de bases púricas y pirimidínicas. He visto que, tras maquinarias de transcripción, promotores, dedos de zinc, microRNAs, etc. existen teoremas y sus corolarios, pero también misterios aún inescrutables por la prepotente Biología Molecular. Gracias a su enseñanza, sus alumnos, sus colaboradores y, particularmente, sus admiradores, entre los que me cuento, hemos podido entender las bases de la Genética moderna, esa disciplina que si siempre fue necesaria para entender la vida, ahora también es imprescindible para entender la enfermedad. Gracias, Profesor Lacadena, por confiar en mí y avalar mi entrada en esta digna institución.

Contar con el apoyo y entusiasmo del Profesor Julio Rodríguez Villanueva es una de esas gracias que uno recibe, no por méritos propios sino como consecuencia de su generoso y altruista carácter. Pues bien, señoras y señores académicos, queridos amigos, yo soy afortunado de contar con su amistad y su apoyo. Amistad y apoyo que han sido correspondidas por mí con un profundo respeto y admiración. No en vano influyó desde muy pronto en mi carrera científica,

pues su entusiasmo por la ciencia y su profunda confianza en la capacidad de los españoles para llevarla a cabo fue decisiva en afianzar mi propósito de dedicar mi vida a la investigación científica. De hecho, conocí al Profesor Villanueva en un momento decisivo de mi trayectoria científica. Estaba finalizando mi Tesis Doctoral en la Universidad de Granada cuando asistí a un seminario impartido por el Profesor Rodríguez Villanueva. Había sido invitado por el Profesor Mayor Zaragoza con la intención de que nuestro grupo de Granada conociera las investigaciones del Instituto de Microbiología Bioquímica que el Profesor Villanueva había fundado recientemente en Salamanca. En ese momento yo estaba a punto de enfrentarme a un reto importantísimo para el devenir de mi vocación científica. En este sentido, había sido formalmente aceptado para realizar una estancia postdoctoral con el Prof. Sir Hans Krebs, premio Nobel de Fisiología o Medicina y que entonces trabajaba en la Radcliffe Infirmary de Oxford. Estaba a punto de trabajar con el más eminente científico del momento, alguien que le había dado su nombre a los más importantes ciclos metabólicos. Alguien conocido y venerado por estudiosos y científicos de todo el mundo. ¿Debería dar yo este paso? ¿O, humildemente, debería declinar la invitación ante el insuperable reto que suponía relacionarme con tan eminente genio de la investigación científica? Pues bien, el Profesor Villanueva vino a darme el valor necesario para aceptar el reto. Porque detrás de su relato de su doctorado en Cambridge y de la historia y de los resultados de su reciente mente inaugurado Instituto subyacía el discurso de la indudable capacidad del español para la investigación científica y de la necesidad de que nos incorporásemos como país al mundo de la Ciencia, sin dudas y sin complejos, decididamente, como nos correspondía por nuestro glorioso pasado en las Artes y las Letras.

Sus palabras despejaron mis dudas. Tenía el apoyo de mi maestro, Federico Mayor Zaragoza, que me había abierto las puertas del laboratorio del Profesor Krebs. Tenía el apoyo del British Council, que me había concedido una beca para mi estancia. Y conocía al detalle la investigación del grupo que me acogería en Oxford. Por consiguiente, a primeros de septiembre tomé un vuelo charter para Londres, con la maleta llena de separatas y con la inquietud de cumplir las expectativas que en mí se habían depositado.

Siguiendo las estrofas de Schiller:

¡Alegría! ¡Alegría! Girad sobre el plan magnífico del Cielo. Así, hermanos, corred a cumplir vuestro destino, llenos de alegría como el héroe que marcha a la victoria.

Como ven, la influencia del Profesor Villanueva en la ciencia española ha ido más allá que la ejercida en los componentes de su extensa e importante escuela, la cual, como saben, ha nutrido a la universidad española y al Consejo Superior de Investigaciones Científicas de excelentes profesores e investigadores. Es obvio que su influencia en mi decisión de abrazar la carrera investigadora, antes mencionada, no es más que un pequeño ejemplo de la labor del Profesor Villanueva en pos del desarrollo de la investigación en España. Recordemos su constante empeño en la difusión de los logros científicos llevados a cabo por los españoles. Su decidido apoyo a la creación de nuevos centros de investigación que pudieran atraer a nuestros científicos sólidamente establecidos en el extranjero. Su incansable labor para conseguir una Universidad mejor, que entusiasmara a nuestros jóvenes en la aventura del conocimiento. Una labor exhaustiva, si se juzga por la infinidad de artículos escritos en los principales periódicos de nuestro país, en donde también se denunciaban deficiencias pero seguidas de soluciones viables.

Resulta casi imposible abarcar el estudio de todas sus propuestas y de como éstas han influido en nuestros gobernantes de un signo o de otro, antes y después de la transición política de 1975. Ahí están las hemerotecas pero, aún más fácil, ahí esta el compendio de una parte de sus artículos, que publicó en su momento la Fundación Ramón Areces, para entender que tantas y tan acertadas propuestas no han podido caer en el vacío y que hoy tenemos un horizonte despejado y una realidad tangible en la investigación científica española gracias a la labor, sin pausa, de mentores como el Profesor Villanueva, que lograron con su esfuerzo hacer entrar a nuestro país en el concierto internacional de la Ciencia y la Tecnología.

Pero la oda continúa:

Nosotros entramos en tu santuario con fuego divino

Estas palabras de Schiller definen con precisión la actitud del Profesor Rodríguez Villanueva cuando es nombrado Vicepresidente del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces. Porque la Fundación Ramón Areces es el lugar idóneo para un hombre como él. Es su hábitat perfecto, allí donde se ayuda a la ciencia española de manera altruista, allí donde todo es “sans but lucratif”, allí donde se cuida tanto el capital humano de la investigación española. Allí donde se ayuda la investigación, especialmente en aquellos campos que por su especial relevancia o su relativa orfandad, requieren un impulso coyuntural. Allí es donde el Profesor Villanueva destaca por su desbordada actividad, convenciendo a unos y otros de los métodos idóneos para la promoción de la investigación en España. Como compañero suyo en el Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces he sido testigo de ello. Se trata de una verdadera simbiosis entre el “querer” y el “cómo” hacerlo. Entre el fin y los

medios. Se trata del deseo y la realidad sin solución de continuidad.

Es innecesario que me extienda más en la cualidades del Profesor Villanueva, pues en esta corporación, en la Real Academia Nacional de Farmacia, ha desarrollado ampliamente su actividad, primero como destacado académico, después como Presidente y en la actualidad como Presidente de Honor. Gracias, Don Julio, por su constante apoyo hoy explicitado aquí y una vez más por su aval para mi ingreso en esta corporación.

Y entonces ocurrió lo inesperado, los delegados ante la UNESCO dejaron a un lado sus adhesiones a bloques y banderías y creyeron en el mensaje de Federico Mayor Zaragoza. Hasta entonces el voto de los delegados era predecible, pues, tras una fingida actitud multilateral, se escondían sibilinos pactos movidos por la cruceta de los estados poderosos. Hasta entonces los candidatos eran respaldados por su país de origen. Hasta entonces se seguían hipócritas reglas de pertenencia a continentes. Hasta entonces los programas electorales se diluían en las bambalinas de despachos influyentes. Hasta entonces los delegados se habían dejado dirigir por los intereses de sus propios gobiernos.

Sin embargo, algo nuevo y singular iba ocurrir en la pomposa UNESCO. Algo nuevo y singular y, no obstante, consustancial con su nombre y con sus fines. No en vano UNESCO es el acrónimo de: “Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura”. Porque fueron, señoras y señores académicos, queridos amigos, los científicos los que convencieron a los delegados sobre la idoneidad de Federico Mayor. Porque, por primera vez en la historia de la organización, un grupo de Premios Nobel y otros destacados científicos se constituía en comité electoral para defender la candidatura de Federico Mayor a la Dirección

General de la UNESCO. Pero lo más asombroso e inesperado fue que el mensaje directo, sencillo y, sin embargo, profundo de que la misión de la UNESCO es la de servir de vehículo de paz a través de la educación, la ciencia y la cultura, penetró en las adormecidas estructuras de la organización y creó una nueva esperanza de que las Naciones Unidas pudieran aportar paz a un mundo convulso y resignado a las amenazas de una guerra menos fría pero llena de rescoldos de enfrentamientos y desencuentros. Por fortuna, en la UNESCO habían calado las palabras de Schiller cuando continúa en su oda:

Un poder mágico reúne a los que el rango y el mundo han separado; bajo la sombra de tus suaves alas [las de la alegría] todos los hombres se hacen hermanos.

Cuando esto acontecía en París, en 1987, el discípulo de Federico Mayor, éste que les habla, luchaba por crear un grupo de investigación en Bioquímica Perinatal en la antigua y renombrada Universidad de Salamanca. La escasa diferencia de edad con su maestro le había permitido asistir a todos y cada uno de los grandes hitos de su trayectoria profesional. Había visto cómo el brillante catedrático se había convertido en Rector de la Universidad de Granada, primero, en Presidente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, después. Más tarde, Subsecretario del Ministerio de Educación, Director General Adjunto de la UNESCO y, finalmente, Ministro de Educación y Ciencia. Había seguido su trayectoria como en una variante del mito de Sísifo, en la que cuando el discípulo ha empujado la roca por la empinada pendiente y se ha detenido en el borde de la aparente cima, percibe que de lo que se trata es de una pirámide escalonada donde la roca del maestro ya ha alcanzado niveles mucho más elevados. No ha de temer, en este caso, que

Cronos devuelva al abismo la preciada roca, pero sí que, como en la aporía de Zenón de Elea, sea matemáticamente imposible alcanzar al maestro.

Pero no piensen Señoras y Señores Académicos, queridos amigos, quizás confundidos por esta peculiar recreación del viejo mito, que el discípulo miraba arriba con frustración o disgusto. Por el contrario, sentía orgullo y satisfacción. El mismo orgullo y satisfacción que había sentido años antes en sus clases, sistemáticas, sencillas y directas, a la vez que modernas e innovadoras. Clases que mostraban la verdadera elocuencia, no aquella consistente en perderse en circunloquios estériles para lucir el dominio de la disciplina o de la lengua, sino aquella destinada a fortalecer el ánimo del oyente con el objetivo de provocar en él la alegría del saber, la alegría del conocimiento.

Es más, sus clases no sólo transmitían el conocimiento de la disciplina, sino que, a la vez, mostraban que existía un camino para la renovación científica de España. Un camino que desde este momento decidí transitar y que me condujo hasta aquí, tras enrolarme en este ejército de científicos españoles que ha conducido a nuestra ciencia a alcanzar metas jamás soñadas.

Como ven el Profesor Mayor Zaragoza ha sido mi maestro en el más amplio sentido de la palabra. Pues no sólo me ha enseñado a enseñar, no sólo me ha enseñado a investigar, sino que me ha enseñado el valor del conocimiento y de la investigación vertical, esa que no se recrea en la explotación horizontal del descubrimiento, sino que penetra buscando los segundos y terceros porqués, buscando las claves que puedan explicar nuestra vida con los paradigmas de la física y de la química.

Pero entre todo lo que me ha enseñado, nada más valioso que la convicción de que nuestra investigación debe desti-

narse al estudio de todo aquello que pueda contribuir a disminuir la morbilidad y, en su caso, la mortalidad de las enfermedades. No en vano, todos los que practicamos las ciencias farmacéuticas lo hacemos para disminuir el sufrimiento de nuestros congéneres, sobre todo los de aquellos más vulnerables por su edad o condición.

Gracias, Don Federico, por estos años de tutela y enseñanza y, aún más, gracias por haber sido mi guía aun en la distancia, incluso, sin explícito propósito.

Habíamos dejado al discípulo siguiendo la explicación del maestro sobre vitaminas y coenzimas. Pero debemos reparar, asimismo, en los efectos transversales de una docencia adecuada, aquella que, además de transmitir los conocimientos, atrae prosélitos a la causa del progreso del hombre. Que atrae las voluntades hacia fines superiores al puro conocimiento. Que atrae hacia el verdadero y alegre altruismo, es decir, a utilizar nuestras propias cualidades para la mejora de la sociedad que nos acoge. En nuestro caso, en utilizar nuestros conocimientos para conocer la etiología molecular de las enfermedades y, con ello, luchar contra sus síntomas y secuelas. Así nos convertimos, a la vez que en científicos, en pacíficos soldados de ese inorgánico ejército que lucha contra los deletéreos efectos de la enfermedad.

Por lo tanto, junto a la Bioquímica, aprendí que debía alistarme en esa armada cuya logística consiste en dotar a la medicina de armas terapéuticas que combatan al enemigo de la salud y del bienestar. Aprendí la potencialidad de lo que estaba aprendiendo. Aprendí la teleonomía de mi trabajo. Aprendí a dónde quería encaminar mis pasos. Profesé en la profesión de profesor que enseña e investiga cómo puede lucharse contra el caos causado por una molécula truncada o contrahecha.

Así, entre las líneas de las cuartillas de mis apuntes leí mi modesto oráculo. De pronto, la farmacia de mi padre quedó en un segundo, aunque respetuoso plano, mientras que la Universidad como mi futuro y privilegiado destino.

Es verdad que en mi decisión de profesar en la carrera docente e investigadora influyeron otros e importantes actores. Mi padre, con su decidida voluntad de que cursara el doctorado, que sólo entendí más tarde al conocer que la Guerra Civil había impedido que aceptara la invitación de su primo el Doctor Carlos Rodríguez López-Neira para que formara parte de su grupo. Mi esposa, María Pilar, que me apoyó sin descanso, infundiéndome valor con su clarividente percepción de la realidad. Mis hijos, Ana y José María, que, sorprendentemente, comprendieron desde muy pequeños la importancia de mi trabajo y que celebraron mis éxitos sin importarles el hecho de que hablase de mi materia en un lenguaje extrañamente críptico. A ellos, posteriormente, se unieron Nani y Juanjo, que, como mis nuevos hijos han seguido con mucho interés mi trabajo.

Es el momento de recordar a Schiller, de nuevo, cuando glosa en su Oda a la Alegría:

Aquel que posee una mujer digna de ser amada; sí, el que puede decir que posee un alma sobre esta Tierra, que venga y mezcle su alegría a la nuestra.

De mis colaboradores no voy a hacer una mención específica, pues cada uno sabe de los detalles de nuestra amistad y colaboración. Sí debo resaltar la suerte que he tenido de contar con su afecto y su ayuda profesional y me siento satisfecho de haber contribuido a iniciarlos en sus respectivas carreras docentes e investigadoras. Sin embargo, es mucho más lo que he recibido de ellos, pues su inteligencia y entusiasmo me han servido de continuo acicate y me han per-

mitido superar los “bajíos y escollos” que Shakespeare pone en labios de Casio para describir los avatares de la vida.

John Lennon solía parafrasear a Jean Cocteau cuando decía que *nuestro destino es aquello que nos está ocurriendo mientras intentamos controlar nuestra vida*.

En este sentido, mientras estudiaba la carrera de Farmacia, quedé fascinado por la bioquímica. Me parecía increíble, y aún me lo parece hoy, que se pudiera explicar la vida con el solo uso de los paradigmas de la química. Recuerdo que todos los misterios que los seres vivos habían mantenido en mi mente durante el estudio de otras asignaturas se diluyeron en el complejo suceder de estas fórmulas, que, una tras otra, definían los fenómenos vitales como si dibujaran una hoja de ruta de la vida. Las vitaminas resultaron ser coenzimas que colaboraban con proteínas que catalizaban nuestras reacciones vitales. Las bacterias se reproducían porque duplicaban las bases púricas y pirimidínicas de su acervo genético. Los vegetales producían sustancias químicas sencillas que, como hormonas, dirigían su crecimiento. La maquinaria energética de los seres superiores dependía de pequeñas moléculas yodadas que se segregaban por el tiroides. La interacción de la actina y la miosina explicaba el movimiento del músculo. Y no sólo el movimiento sino, incluso, quizás también el pensamiento que, pensábamos, se podría explicar algún día mediante las pequeñas moléculas que en la sinapsis dirigen el flujo de nuestros impulsos nerviosos.

Y lo mejor de todo era que esas rutas metabólicas sólo estaban esbozadas, es decir, quedaba mucho por hacer, mucho por descubrir, mucho que investigar. Quedaban muchos misterios que desvelar, grandes “break through” por realizar y yo podía disfrutarlos como testigo cercano o, espezanzadoramente, como actor directo de la investigación.

Sin embargo, al llegar al laboratorio, ante un tema real, el de mi tesis, me di cuenta de las dificultades que lleva consigo la más mínima aportación científica. Constaté la complejidad de las técnicas y de los equipos, el necesario pero enrevesado tratamiento estadístico de los resultados y, sobre todo, la dificultad de convencer a los evaluadores de las revistas de la bondad de nuestro trabajo. Es decir, aprendí de lleno todo aquello que se concita para moderar nuestra ilusión y sosegar nuestros impulsos.

Inocente aún de estas dificultades, mi trabajo de tesis era apasionante. Debería investigar si los hipoglucemiantes orales, utilizados en el tratamiento de la diabetes mellitus, afectaban a la gluconeogénesis y, en su caso, cuál era su mecanismo de acción. De hecho, si demostráramos que estos fármacos inhibían la gluconeogénesis podríamos explicar *per se* su efecto hipoglucemiante. Como se sabe, la gluconeogénesis es la vía metabólica diseñada para la síntesis de glucosa a partir de sustratos no glucídicos. Este proceso, que está destinado a suministrar glucosa en ayuno, se encuentra paradójicamente muy activo en el diabético, lo que contribuye muy marcadamente al mantenimiento de la hiperglucemia, aun en circunstancias de ayuno. Elegimos para el estudio la fenformina, cabeza de serie de un grupo de fármacos del que hoy el más utilizado es la metformina. Nuestros resultados pusieron de manifiesto que estos fármacos inhibían con extraordinaria eficacia la gluconeogénesis, lo que explicaba por sí solo el efecto farmacológico de estas sustancias. Poco podíamos imaginarnos entonces que hoy, casi cuarenta años más tarde, estos fármacos constituyeran aún una pieza fundamental en el tratamiento de la diabetes.

Desde el punto de vista estrictamente bioquímico, mi trabajo de tesis me enseñó a estudiar a fondo una vía metabólica tan interesante como es la gluconeogénesis, cuya

regulación es extremadamente sofisticada, pues compite con un proceso tan vital para la supervivencia celular como es la glucólisis. En efecto, la necesidad de que la gluconeogénesis y la glucólisis no coincidan el tiempo, lleva consigo la existencia de sistemas de control muy precisos, con enzimas muy sofisticadas que se regulan por sistemas muy diversos, algunas veces superpuestos para funcionar a diferentes niveles. Así, la gluconeogénesis no es sólo un proceso esencial para nuestra supervivencia en ayuno, sino que constituye un paradigma de la regulación metabólica, en donde se utilizan todos los sistemas de regulación enzimática, incluso algunos inéditos en aquel tiempo, tales como el aumento inmediato de la expresión de la fosfoenolpiruvato carboxikinasa en ayuno o ejercicio.

La complejidad de esta vía me obligó al estudio de los sistemas de regulación metabólica, de manera que mi investigación no se limitó estrictamente a mi trabajo de tesis, sino que penetró en zonas fronterizas para lo entonces desconocido, tales como la regulación de la síntesis de proteínas, la interacción proteína-proteína, la regulación por el AMP cíclico, etc.

Retrospectivamente, creo que el estudio de esta vía compleja y sofisticada me preparó adecuadamente para mi etapa postdoctoral, antes mencionada, con el Prof. Krebs en la Radcliffe Infirmary de Oxford. Pues si en aquel entonces existía un templo del conocimiento de los procesos bioquímicos, era el laboratorio del Profesor Krebs, el cual había desentrañado los grandes procesos bioquímicos y había introducido un concepto simple pero, sin embargo, genial: el de la “cuantitividad” de los procesos biológicos. En un momento en que los bioquímicos nos preguntábamos por la existencia, o no, de un conjunto de reacciones bioquímicas, él se preguntaba por la estequiometría del proceso. Así, la existencia de un

proceso dependía de si se cumplía o no esta sencilla ley de la Química. A mí esta idea me parecía genial, pues limpiaba de cualquier tinte esotérico a los procesos biológicos. Si éstos estaban sometidos a la aritmética, los fenómenos vitales eran susceptibles de ser estudiados científicamente. Efectivamente, los seres vivos son excepcionales al combatir la entropía, pero son fieles cumplidores de las leyes de la termodinámica. De hecho, aumentan la energía interna disminuyendo la entropía pero cuando su estado estacionario se rompe sobreviene la muerte y la energía se disipa del sistema. Así, la célula es un elemento extremadamente complejo, pero se rige por las leyes químicas. Nos llevaría un tiempo conocer sus intrincados procesos, pero teníamos el método científico para abordar su conocimiento. Pensaba que podríamos someter a escrutinio a los seres vivos con la sola limitación de nuestros métodos y habilidades. Por fin podíamos prescindir de la “fuerza vital”, tras la que los maestros de Ramón y Cajal escondían su ignorancia. Pero todo ello sin sentirnos dioses, pues formamos parte de lo que estudiamos y, por consiguiente, tenemos que ser conscientes de nuestras limitaciones.

Precisamente de estas últimas, mis limitaciones, era bien consciente a mi llegada al laboratorio del Profesor Krebs en Oxford. El “Prof”, como coloquialmente se le llamaba en su laboratorio, se había jubilado recientemente como Director del Departamento de Bioquímica de Oxford y había sido sustituido por el Profesor Rodney R. Porter, también Premio Nobel por el descubrimiento de la estructura de las inmunoglobulinas. Sin embargo, el National Research Council del Reino Unido le había ofrecido un laboratorio en la Radcliffe Infirmary para que continuara sus investigaciones sobre el metabolismo. Y, de hecho, nada parecía haber cambiado con su jubilación. En el laboratorio reinaba la actividad y el entusiasmo, el propio Krebs realizaba experimentos en el Warburg

en los cortos intervalos entre sus frecuentes viajes y sus colaboradores llevaban a cabo sus propios experimentos codo con codo con sus estudiantes de doctorado.

Después de haber descubierto el ciclo de la urea, el ciclo tricarboxílico e infinidad de reacciones y enzimas, en el momento que yo me incorporé a su laboratorio el Profesor Krebs estaba empeñado en demostrar el valor fisiológico de los cuerpos cetónicos. Es necesario recordar que, hasta ese momento, los cuerpos cetónicos eran considerados metabolitos patológicos, que sólo se producían en la diabetes, en la cetosis séptica o en el último periodo del embarazo. Sin embargo, los estudios de Krebs demostraron que los cuerpos cetónicos se producen en circunstancias fisiológicas y que constituyen un sustrato alternativo a la glucosa, lo que permite el desarrollo del cerebro, aun en las circunstancias menos favorables. En su afán de perseguir lo cuantitativo en los procesos bioquímicos, me encargó la tarea de averiguar por qué la oxidación de ácidos grasos no conducía a una producción de cuerpos cetónicos estequiométrica, observándose una “fuga” de carbonos hacia otro proceso desconocido. Pudimos cuantificar la fuga, aunque no así su sentido fisiológico, dado que en aquel momento se desconocía que los peroxisomas, unos orgánulos celulares a los que se había prestado poca atención, llevaban a cabo también la beta-oxidación. Por ello el hígado no producía cuantitativamente cuerpos cetónicos, ya que parte de los carbonos se “perdían” en los peroxisomas. En este trabajo aprendí que no siempre conviene ir tan en vanguardia, pues generalmente se carece de la información necesaria para cubrir los flancos.

Sin embargo, además de esta “filosofía cuantitativa” que antes he mencionado, el Profesor Krebs transmitía su especial análisis cartesiano, que no sólo aplicaba a la investigación científica sino a cualquier otra actividad de la vida cotidiana.

Así, cuando llevaba unos meses en su laboratorio se me acercó una mañana y me dijo que observaba en mí la existencia de lo que él llamó dos “anomalías”. Antes de que pudiera reponerme de la impresión que me causaba lo que temía fuese una censura, añadió: “Sí, observo en usted dos anomalías. La primera es que no sepa alemán, a pesar que tiene antecedentes familiares cercanos (ya habíamos hablado anteriormente sobre el segundo apellido de mi padre, Schärzinger) y la segunda, continuó, que siendo español no haya seguido los pasos de Ramón y Cajal en el estudio del Sistema Nervioso”.

Curiosamente, aunque la primera anomalía nunca fue subsanada, pues como dice Tad Marburg: “la vida es muy corta para aprender alemán”, la segunda, es decir, la de interesarme en el estudio del Sistema Nervioso, se vio cumplida plenamente, aunque como veremos más tarde, no como causa-efecto de la palabras del Premio Nobel. Por otro lado, el ser poseedor de la primera anomalía me calificó como “al-fin-y-al-cabo-alemán”, lo que me permitió disfrutar de su amistad, aunque siempre dentro de los términos cartesianos antes mencionados.

Sea como fuere, mi estancia en el laboratorio del Profesor Krebs no sólo me sirvió para mi formación científica sino que me permitió observar el panorama científico internacional desde un puesto privilegiado y afirmó mi convicción de que los españoles podíamos jugar un papel destacado en el progreso de la ciencia moderna.

Desde el punto de vista bioquímico, mi estancia en el laboratorio del Profesor Krebs me supuso un reto muy importante, dado que durante mi tesis había estudiado la gluconeogénesis y, con ella, había conocido el metabolismo glucídico. Sin embargo, el trabajo que me proponía el Profesor Krebs era bien diferente. Se trataba de investigar a fondo

la regulación de la síntesis de cuerpos cetónicos. Es decir, investigar cuáles eran sus sustratos fisiológicos, cuáles de ellos ofrecían mayor rendimiento, cómo y cuánto de ellos se destinaba a la cetogénesis, etc. Esto me obligó a ponerme al día en la regulación de todas las vías consumidoras de acetil-CoA, es decir, el ciclo tricarboxílico, la biosíntesis de ácidos grasos, la vía de síntesis de colesterol, así como la cetogénesis propiamente dicha. En resumen, después instruirme en el metabolismo glucídico durante mi tesis, me vi obligado a estudiar todo el complejo mundo del metabolismo lipídico. Sin embargo, recuerdo este hecho como uno de los más gratificantes, puesto que me infundió una gran seguridad en mi capacidad de enfrentarme a los problemas bioquímicos y, como comprobé más tarde, me sirvió extraordinariamente en mi labor docente, al conocer de primera mano aquello que explicaba a mis alumnos.

Con estos antecedentes entenderán ustedes, señoras y señores académicos, queridos amigos, que a mi vuelta a España me sintiera lleno de confianza y dispuesto a abordar con éxito cualquier proyecto de investigación por muy intrincado que pareciese. De hecho, el encargo de mi Maestro, Federico Mayor, de abordar el estudio de la bioquímica perinatal, me parecía “las sendas de las flores” que menciona Schiller en su oda. Sólo bastaría, ingenuamente pensaba, que aplicara mis conocimientos bioquímicos a una situación especial, como la que es la transición a la vida extrauterina. Sin embargo, desde el comienzo de nuestro estudio el recién nacido no hizo más que sorprendernos por sus peculiaridades bioquímicas. De hecho, el neonato parecía incumplir todos los dogmas metabólicos vigentes. Desde la supuesta inducción inmediata de la gluconeogénesis, que demostramos tardía y con un *tempo* característico, a la anaerobiosis postnatal transitoria, que resultó inexistente y, por tanto, no

relacionada con la oclusión del *ductus arteriosus*, ni con la supuesta inmadurez de la maquinaria respiratoria. La regulación endocrina perinatal parecía fuera de control. Así, la insulinemia y la glucagonemia no seguían a la glucemia. La glucogenolisis postnatal no estaba dirigida por el glucagón. El ciclo glucosa/ácidos grasos de Garland, aparentemente detenido. La cetogénesis, vital para la supervivencia del cerebro del recién nacido, misteriosamente retrasada. En resumen, una situación paradójica si se analizaba con los paradigmas del metabolismo del adulto.

Afortunadamente, todos estos misterios los fuimos desgranando uno a uno. Por ejemplo, descubrimos que de la glucogenolisis postnatal se encargaba la adrenalina, segregada tras la obliteración del cordón umbilical, mientras que el glucagón se reservaba para la tardía inducción de la gluconeogénesis, etc. En fin, parecía que durante el periodo perinatal actuaba la misma orquesta, con los mismos instrumentos aunque con un *tempo* diferente. La sinfonía que se interpreta es la de la introducción a la vida, una sinfonía que se ejecutará una sola vez, ya que tras su debut será retirada del cartel, pero que de su correcta ejecución dependerá el resto de nuestra vida.

INTRODUCCIÓN

Entre esas excentricidades bioquímicas del recién nacido, que antes hemos mencionado, una nos llamó poderosamente la atención por su excepcionalidad. En efecto, nuestros resultados demostraron, sin lugar a dudas, que el recién nacido acumulaba en sangre ácido láctico, con el propósito de utilizarlo como sustrato metabólico durante el periodo postnatal inmediato. Por consiguiente, la presencia de ácido láctico en la sangre del recién nacido no era fortuita ni de origen patológico. Por el contrario, estaba destinada a suministrar energía al neonato en un momento tan crítico de su vida en que la precariedad de sustratos energéticos forzaba a la inducción del gen *Atg5* y, con él, la autofagia de los propios tejidos del neonato. De hecho, en estas circunstancias el ácido láctico constituye la principal fuente de energía del recién nacido, mientras que el proceso autofágico parece estar destinado a suministrar los aminoácidos esenciales que permitan continuar con el desarrollo del Sistema Nervioso.

Nos preguntamos por la procedencia del ácido láctico y el motivo de su elección como protagonista de la vida postnatal temprana. Las respuestas tardaron en llegar, puesto que tuvimos que estudiar los transportadores placentarios de ácido láctico y la direccionalidad del proceso para demostrar que el feto acumula durante el último periodo de la gestación una considerable cantidad de ácido láctico, que le sirve de bagaje para afrontar las primeras horas de vida extrauterina. Por otro lado, las condiciones pseudohipóxicas de los tejidos

del *conceptus* explicarían la síntesis de ácido láctico a través de la glucólisis anaerobia.

Con estos datos conocimos el origen y la “elegibilidad” del ácido láctico como fuente de energía pero nos faltaba por investigar algo aún más importante, es decir, el destino final de este sustrato. De nuevo los resultados se hicieron esperar pero, por fin, pudimos demostrar que el cerebro del recién nacido era el principal destinatario de este excepcional sustrato. Efectivamente, con los rudimentarios métodos de la época pudimos demostrar que cortes de cerebro incubados con ácido láctico utilizaban con avidez este sustrato, prefiriéndolo, incluso, a la glucosa y los cuerpos cetónicos. La teleonomía del proceso empezaba a desvelarse en su conjunto. Así, el feto acumula ácido láctico durante el último periodo de la gestación, para disponer de un sustrato altamente energético durante el periodo postnatal temprano. Incluso los posibles efectos adversos de la acidosis láctica concomitante están neutralizados por el amonio libre circulante.

Aunque después de esfuerzos incontables, teníamos un paradigma donde encuadrar el comportamiento excepcional del recién nacido. Pero mucho más importante, podíamos explicar las causas de la mayoría de la patología perinatal relacionada con la prematuridad y el trauma hipóxico-isquémico. Así, el acúmulo de ácido láctico observado en el neonato prematuro, o tras los episodios hipóxico-isquémicos, no era debido a una sobreproducción de ácido láctico sino a la inhibición de su consumo por la falta de oxígeno. El peligro de la hiperlactacidemia no estaba en la acidosis concomitante sino en que mostraba el bloqueo de la utilización del único sustrato disponible. Por consiguiente, los daños cerebrales se producían por la penuria energética, la cual ponía en peligro la denominada “neurogénesis secundaria”, es decir, la proliferación neuronal que tiene lugar inmediatamente tras el

nacimiento (véase “El ácido láctico: De villano a héroe de la homeostasis energética perinatal”. Discurso de ingreso como Académico de Número de la Real Academia de Medicina de Salamanca. Salamanca, 2010).

Como ven, el esquema general estaba casi terminado, pero el camino había sido largo e intrincado. Además habíamos llegado a un punto de inflexión muy importante. Si queríamos seguir profundizando en el estudio del destino del ácido láctico, si queríamos seguir esa investigación vertical que mencionábamos al comienzo de este discurso, el camino nos llevaría directamente al estudio del Sistema Nervioso. Y esto suponía un nuevo reto, un nuevo mundo, en donde el espectrofotómetro tendría que dar paso al microscopio confocal y en el que la histología tomaría un protagonismo decisivo y en donde la complejidad del tejido objeto de estudio obligaría a nuevas estrategias experimentales. Tendríamos que abordar el estudio de un tejido complejo formado por diversas clases de células, es decir, neuronas, astrocitos, oligodendrocitos y microglías que, sin duda, interaccionarían entre ellas metabólicamente. Esta red de señales e intercambios es esencial para el funcionamiento del Sistema Nervioso, un tejido basado en la comunicación y manejo de la compleja y variada información de nuestro entorno. Sin embargo, esta sofisticada interrelación entre sus componentes celulares dificulta extraordinariamente su estudio, puesto que lo que una célula hace puede deshacerlo la adyacente, resultando el proceso global desapercibido para el observador. Por todo ello utilizamos una estrategia “reductiva”, es decir, aislamos cada una de estas clases de células, investigamos su comportamiento y, posteriormente, las aproximamos para estudiar sus relaciones.

En este sentido, aislamos neuronas y comprobamos que en cultivo mostraban un comportamiento metabólico normal,

utilizando glucosa y cuerpos cetónicos como fuente de energía. Pero, de manera inesperada, nuestro estudio demostró que en estas circunstancias las neuronas preferían utilizar ácido láctico, reservando la glucosa para destinos más específicos, tales como el ciclo de las pentosas fosfato. Este sorprendente resultado tenía un sólido fundamento: el recién nacido en circunstancias fisiológicas sufre una profunda hipoglucemia, por lo que no debe gastar la escasa glucosa disponible en procesos que requieren un consumo masivo de sustratos.

Por consiguiente, las neuronas eran capaces de utilizar ácido láctico de manera activa y continuada. Sin embargo, en la compleja estructura del Sistema Nervioso, la fuente de ácido láctico, es decir, la sangre, se encuentra lejana de las neuronas, interponiéndose entre ellos una compleja trama de astrocitos comunicados entre sí por uniones comunicantes (“gap junctions”). En este sentido, la puesta a punto de una delicada técnica “ad hoc” nos permitió demostrar que el ácido láctico atraviesa estas sofisticadas estructuras que comunican astrocito con astrocito, posiblemente con la intervención del canal de potasio sensible al ATP, que actúa como cancerbero de estas compuertas. De esta forma, las uniones comunicantes actuarían como esclusas que inundarían de ácido láctico los astrocitos adyacentes, hasta alcanzar las neuronas profundamente insertadas en el entramado celular del cerebro.

Pero en el transcurso de esta investigación, un resultado aparentemente secundario a nuestra investigación principal nos introdujo de lleno en el estudio del desarrollo postnatal del cerebro. Así, los astrocitos resultaron ser también consumidores de ácido láctico, pero lo más sorprendente era que dedicaban una considerable cantidad de este sustrato para sintetizar una enigmática molécula que exportaban al exterior celular. La identificación de la sustancia tan devotamente

sintetizada por los astrocitos, nos sorprendió sobremanera. Se trataba de una molécula sencilla, ubicua y de estructura largamente conocida. Nada de lo que nuestra imaginación pudiera haber soñado. Nada de los sofisticados lisofosfolípidos en boga. Nada de complicados señalizadores químicos. Simple y llanamente un ácido graso, el ácido oleico. No cabía duda, los astrocitos se empeñaban en sintetizar ésa y no otra sustancia y, para ello, inducían todas las enzimas necesarias, incluida la más específica, la estearil-CoA desaturasa, que introduce el doble enlace característico del ácido oleico. Para despejar cualquier sospecha de un posible artefacto de laboratorio, estudiamos en profundidad la regulación de la síntesis de ácido oleico en los astrocitos, comprobando que la inducción de la estearil-CoA desaturasa era precedida de la activación del SREBP 1, un factor de transcripción clave en la regulación del metabolismo lipídico.

En fin, no cabía duda de que el astrocito dedicaba toda su atención en derivar parte de su sistema metabólico hacia la síntesis de este ácido graso, el cual no utilizaba en su beneficio, sino que lo liberaba al exterior con fines desconocidos. Nos preguntamos, pues, si el ácido oleico sería un nuevo actor en el diálogo astrocito-neurona. Es decir, si sería integrante de este complejo sistema de apoyo que el astrocito maneja para mantener la actividad neuronal libre concentrada en la transmisión del impulso nervioso. Si esto fuera así, el ácido oleico sintetizado por los astrocitos estaría destinado a las neuronas, lo que nos conducía a hacernos nuevas preguntas, aquéllas sobre por qué precisamente este ácido graso y para qué lo quieren las neuronas. Probemos, pues, pensamos, qué ocurre si añadimos el ácido oleico a neuronas aisladas y comprobemos si éstas lo utilizan y con qué fines.

Los primeros resultados al respecto fueron, en cierta manera, los esperados. Las neuronas tomaban el ácido oleico

y lo incorporaban directamente a los fosfolípidos constituyentes de sus membranas. Esto ocurría preferentemente en los conos de crecimiento, como si la incorporación del oleico diera fluidez a la membrana neuronal en los lugares de crecimiento de axones y dendritas. La membrana neuronal es muy rígida, pensamos, por lo que requiere la fluidez que aporta el oleico para el crecimiento de las neuritas. Concluimos, pues, que los astrocitos enviaban ácido oleico a las neuronas para ayudarles en su crecimiento y diferenciación.

Sin embargo, algo mucho más importante atrajo nuestra atención. Sorprendentemente la presencia del oleico causaba, además, una profunda transformación de las neuronas, de manera que éstas migraban para agruparse por sus somas, emitiendo axones que, como destellos, conectaban entre sí las agrupaciones formando unas estructuras que remedaban la separación de las materias gris y blanca en el Sistema Nervioso Central. Estos cambios causados por el ácido oleico eran constatables molecularmente por la inducción concomitante de marcadores del crecimiento axonal y dendrítico, el aumento de moléculas relacionadas con la migración celular, así como de aquéllas implicadas en la formación de sinapsis. En otras palabras, la presencia de ácido oleico inducía la diferenciación neuronal, comportándose, pues, como un factor neurotrófico. Es más, su acción era sinérgica con factores neurotróficos tan conocidos como las neurotrofinas NT 3 y NT 4/5 y actuaba a través de una cadena de señales que terminaba en el NeuroD2, un factor de transcripción clave en la diferenciación final del fenotipo neuronal. Encontramos también las moléculas señalizadoras intermedias, que resultaron ser: la FABP, que transporta al ácido oleico a través del citoplasma neuronal, la proteína kinasa C, que amplifica la señal neurotrófica y el PPRAalfa que, como factor nuclear, orquesta la expresión de los genes implicados.

Por consiguiente, este conjunto de resultados mostraba un nuevo paradigma en las relaciones astrocito-neurona, que iba más allá del suministro de una molécula en la que la neurona pudiera ser deficiente. Se trata de enviar una señal, el ácido oleico, que con su presencia ordena la diferenciación final de las neuronas, promoviendo el crecimiento axonal y dendrítico, la migración de las neuronas hacia el lugar preciso y la formación de las conexiones sinápticas. Todo ello para construir la red de comunicaciones que caracteriza al Sistema Nervioso Central. Y sabemos que este fenómeno tiene lugar *in vivo*, puesto que, en unos experimentos realizados en cultivos organotípicos, hemos demostrado que el ácido oleico sintetizado en la zona periventricular difunde hacia el estriado, provocando el crecimiento y fasciculación de los axones. Este proceso se anula si silenciamos la estearil-CoA desaturasa mediante la técnica de RNA de interferencia, lo que demuestra que la síntesis del ácido oleico es estrictamente necesaria para la fasciculación de los axones del estriado.

Podemos concluir, por consiguiente, que los astrocitos sintetizan y segregan un nuevo factor neurotrófico, el ácido oleico, que dirige la ejecución del último programa de la diferenciación neuronal. Sin embargo, este efecto es limitado en el tiempo y en el espacio, pues sólo se observa en la zona periventricular cercana al estriado y tiene lugar en una ventana de tiempo limitada a la etapa postnatal temprana. Pero es aquí y en este tiempo cuando tiene lugar la segunda etapa del desarrollo cerebral. En otras palabras, el ácido oleico actúa como factor neurotrófico en un periodo clave del desarrollo cerebral que tiene lugar en los alrededores del nacimiento.

En este sentido, la especie humana accede a la vida extrauterina sin que el desarrollo del Sistema Nervioso Central esté completamente ejecutado. De hecho, por un salto neoténico, que posiblemente tuvo lugar como consecuencia

de la fuerte encefalización característica de nuestra especie, el recién nacido humano accede a la vida extrauterina con una inmadurez manifiesta, que le impide ver, desplazarse o acceder al alimento y que requiere una asistencia continua por parte de la madre. Este hecho, al contrario de lo que parece, constituye una extraordinaria ventaja evolutiva, al permitir el desarrollo final del cerebro sin impedimentos de espacio y tiempo. Por consiguiente, el desarrollo del Sistema Nervioso Central continúa, en nuestra especie, después del nacimiento, cumpliendo una etapa crucial en el establecimiento de las estructuras finales de nuestro cerebro. En este sentido, las circunstancias patológicas que algunas veces inciden en este periodo, tales como la prematuridad o el trauma hipóxico-isquémico, tienen consecuencias devastadoras cuando afectan a los centros neuronales aun proliferativos durante este periodo (véase “Origen neoténico de la mente” Discurso de ingreso como Académico de Número de la Real Academia de Doctores de España. J.M^a Medina, 2002).

De hecho, los centros más activos durante este periodo están situados en la zona que tapiza los ventrículos laterales, denominada zona periventricular, precisamente aquella zona donde antes mencionábamos habíamos detectado la síntesis de ácido oleico. Es más, las concentraciones de ácido oleico libre en cerebro muestran un pico espectacular inmediatamente tras el nacimiento, al que le siguen los correspondientes a los marcadores del crecimiento axonal y dendrítico. Todo esto sugiere que el desarrollo postnatal del cerebro está dirigido por el ácido oleico, que actúa como factor neurotrófico promoviendo la diferenciación neuronal durante este período.

Llegado este momento, señoras y señores académicos, queridos amigos, sólo nos queda por desvelar la identidad de la señal primigenia, aquélla que dirige la síntesis y secreción

del ácido oleico y que, por consiguiente, es la responsable en primer grado del desarrollo postnatal del cerebro.

Pues bien, a lo largo de nuestra investigación fue creciendo nuestro convencimiento de que era la albúmina sérica la que dirigía este periodo del desarrollo del cerebro. Así, durante la transición a la vida extrauterina, la principal proteína sérica del feto, es decir, la alfa-fetoproteína, es reemplazada por su homóloga de la vida adulta, la albúmina, cuyas concentraciones aumentan extraordinariamente en los últimos días de la gestación. Pero aún más interesante para nuestra tesis, durante el período postnatal temprano la albúmina se acumula en cerebro, alcanzando concentraciones diez veces superiores a las existentes en sangre.

Este hecho podría interpretarse como un sistema general de protección de las inmaduras estructuras cerebrales, si no fuera por el hecho de que es la albúmina la inductora de la síntesis de ácido oleico en los astrocitos. En efecto, si impedimos la entrada de la albúmina en el astrocito, suprimiendo la síntesis de megalina mediante la técnica de RNA de interferencia, la inducción de la estearil-CoA desaturasa y, con ello, la síntesis de ácido oleico, languidecían hasta niveles indetectables. En otras palabras, si desaparece el receptor de albúmina, la megalina, de la superficie de la membrana, la albúmina no accede al astrocito, inhibiéndose la síntesis de ácido oleico. Por consiguiente, era la albúmina la reguladora de la secreción del factor neurotrófico y, por consiguiente, la responsable última del desarrollo postnatal del cerebro.

Nuestro interés por la albúmina nos llevó a descubrir, además, que la proteína ejercía un efecto protector sobre las neuronas, hasta el punto de que las rescataba de una posible muerte por apoptosis. Este hecho nos decidió a investigar los posibles efectos protectores de la albúmina sobre la muerte neuronal observada en la enfermedad de Alzheimer.

Una de las características fundamentales de la enfermedad de Alzheimer es el acúmulo de beta-amiloide, un péptido que se origina en el exterior de la neurona y que se considera responsable de la muerte neuronal y, por ende, del deterioro cognitivo propio de la enfermedad. Aunque la etiología molecular de la enfermedad dista mucho de estar aclarada, la “hipótesis unificada o conciliatoria”, hoy en boga, supone que el acúmulo de beta-amiloide como respuesta al estrés celular es el detonante de la enfermedad. En este sentido, el beta-amiloide penetraría en la neurona donde interferiría con el metabolismo celular y, muy especialmente, con la maquinaria mitocondrial, a la que forzaría a la producción de radicales libres. Ninguna estructura neuronal se libraría del efecto deletéreo de estos radicales, pero las kinasas de la tau, una proteína fundamental del esqueleto celular, parecen muy sensibles al efecto de los radicales libres, provocando la hiperfosforilación de la tau y, en consecuencia, el ensamblaje del citoesqueleto. La pérdida de la estructura celular, unida a los efectos por doquier de los radicales libres, conduciría a la muerte neuronal y al desarrollo de la enfermedad de Alzheimer.

Teniendo en cuenta estas premisas, decidimos investigar la posible acción protectora de la albúmina sobre los efectos deletéreos del beta-amiloide en neuronas aisladas y cultivadas *in vitro*. El modelo de estudio resultó el adecuado puesto que, en estas circunstancias, el beta-amiloide inducía la muerte neuronal a la vez que provocaba una fuerte producción de radicales libres. Sin embargo, la presencia de albúmina protegía a la neurona ante tan deletéreos efectos, aumentando su viabilidad e impidiendo la producción de radicales libres. Observamos que la albúmina formaba un heterodímero con el beta-amiloide, lo que impedía que éste penetrara en la neurona y causara su muerte. Este resultado

tenía una doble lectura. La primera era que nuestros resultados mostraban que el beta-amiloide tiene que penetrar en la neurona para causar sus efectos tóxicos, lo que *falsaba* la hipótesis, largamente sostenida, de que el beta-amiloide causaba sus efectos tóxicos exclusivamente desde el exterior de la neurona mediante la producción de precipitados indegradables que ocupaban el espacio intersticial, provocando la degeneración del tejido. La segunda lectura de nuestros resultados, para nosotros aun más importante, ponía de manifiesto que la albúmina forma una asociación específica y estable con el beta-amiloide, lo que neutralizaba los efectos tóxicos del péptido.

Este trabajo, que publicamos en el *Journal of Alzheimer's Disease*, tuvo además, una consecuencia inesperada: nos puso en contacto con un grupo español que estaba interesado en utilizar la afinidad de la albúmina por el beta-amiloide en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer. Así, un grupo de investigadores, bajo el amparo del Instituto Grifols de Barcelona, ha utilizado la albúmina humana Grifols para drenar el beta-amiloide del líquido cefalorraquídeo de individuos afectados con la enfermedad de Alzheimer. En este sentido, los enfermos han sido tratados mediante repetidas plasmaféresis con albúmina humana Grifols, con objeto de movilizar el beta-amiloide del líquido cefalorraquídeo. De hecho, el beta amiloide está unido a la albúmina plasmática, por lo que su reemplazo por una albúmina humana nueva, libre de beta-amiloide, promueve la extracción del péptido del líquido cefalorraquídeo y, subsecuentemente, del cerebro. Los resultados son prometedores, puesto que el tratamiento reduce la concentración del beta-amiloide en el líquido cefalorraquídeo, mientras que se observa una mejora del MMSE ("Mimi-Mental Status Examination") y del ADAS-Cog ("Alzheimer's Disease Assesment Scale, cognitive subscale").

En resumen, aprovechando la afinidad de la albúmina por el beta-amiloide, la sustitución repetida de la albúmina sérica mediante plasmaféresis provoca el drenaje del beta-amiloide acumulado en el cerebro, lo que se traduce en una ligera, pero esperanzadora, mejora en el deterioro cognitivo provocado por la enfermedad.

Estos esperanzadores resultados nos han hecho proponer también a la albúmina para el tratamiento del síndrome de Down.

Aunque en raros casos el síndrome de Down está causado por una translocación robertsoniana o por la existencia de mosaïcismo, la mayoría de los enfermos con este síndrome presentan una clara trisomía del cromosoma 21. Desde el punto de vista molecular, la presencia del cromosoma supernumerario se traduce en la sobreexpresión de ciertos genes situados en la denominada “Down Syndrome Critical Region” (DSCR), es decir, la zona del cromosoma 21 más afectada por la trisomía. Uno de los genes afectados es el *APP*, que codifica la proteína precursora del beta-amiloide, lo que lleva consigo la sobreexpresión de la proteína precursora y, por ende, la sobreproducción del péptido tóxico. Este hecho, unido a la hiperfosforilación de la tau provocada por la sobreexpresión de *DYRK*, otro gen de la “región crítica” que codifica una kinasa específica, provoca la degeneración neuronal por un mecanismo casi idéntico al de la enfermedad de Alzheimer. De hecho, los enfermos con el síndrome de Down presentan síntomas de neurodegeneración durante la vida adulta, un hecho claramente imputable a la sobreexpresión continuada de estos genes.

Sin embargo, el deterioro mental más importante del síndrome de Down tiene lugar inmediatamente tras el nacimiento, calculando Morgan que el coeficiente intelectual de los recién nacidos con el síndrome de Down en el momento

del nacimiento es casi normal, aunque desgraciadamente disminuye drásticamente durante los primeros años de vida. Este hecho se acompaña de una observación para nosotros intrigante, que es que durante la etapa postnatal temprana existe una menor incorporación de ácido oleico en los fosfolípidos cerebrales del enfermo.

Como ven, señoras y señores académicos, queridos amigos, estos resultados no hacen más que generar nuevas interrogaciones. Lo primero que debemos preguntarnos es si el déficit de albúmina sérica, un síntoma característico de los enfermos con el síndrome de Down, es el responsable de las dificultades en el desarrollo del Sistema Nervioso Central. Si fuera así, quizás podríamos evitar el deterioro cognitivo con el uso terapéutico de la albúmina sérica humana. Pero, aun en el caso de que este tratamiento fuera insuficiente para evitar el desarrollo de la enfermedad, lo que parece fuera de toda duda es que el tratamiento mediante plasmaféresis, es decir, mediante la sustitución de la albúmina del enfermo por albúmina humana libre de beta-amiloide, conseguirá mejorar el pronóstico de estos enfermos, si con ello conseguimos detener la neurodegeneración tipo Alzheimer característica del síndrome de Down.

DESARROLLO MOLECULAR DEL CEREBRO HUMANO. EL ÁCIDO OLEICO COMO FACTOR NEUOTRÓFICO

El desarrollo del Sistema Nervioso Central tiene lugar poco tiempo después de que el blastocisto genere el disco germinal. En una primera fase se forma el tubo neural, que se desarrolla gracias a los organizadores, es decir grupos de células que segregan factores morfogénicos que segmentan el tubo hasta elaborar un esquema de lo que luego será el Sistema Nervioso Central. Posteriormente, la pared de este tubo se diferencia en su extremo rostral para dar origen al telencéfalo. Dentro de éste se desarrollará el córtex, cuyas células, procedentes de la zona subventricular, migrarán hasta situarse en niveles discretos, conformando la estructura más importante de nuestro Sistema Nervioso Central.

A diferencia del resto de los primates, el desarrollo del cerebro humano tiene lugar en dos etapas bien diferenciadas.

La primera coincide en el tiempo con la mayoría de los mamíferos y tiene lugar durante la etapa embrionaria. La segunda, sin embargo, tiene lugar durante el periodo perinatal y es la responsable de la adquisición de la complejidad de las estructuras cerebrales observada en nuestra especie. En este sentido, la denominada “neurogénesis secundaria” coincide con el periodo postnatal temprano y parece destinada

al desarrollo de nuestro córtex más allá de los límites alcanzados en otros primates.

Neurolación del disco germinal

Una vez que el cigoto ha llegado al estado de mórula, en el que los blastómeros han completado su proliferación formando un cuerpo compacto de 16 células, comienza la formación del blastocisto, coincidiendo con la entrada del cigoto en el útero. El blastocisto se forma por la entrada de líquido procedente de la zona pelúcida, formando una sola cavidad conocida con el nombre de blastocele. En ese momento, cuando desaparece la zona pelúcida y tiene lugar la implantación, las células del interior del blastocisto se diferencian en dos capas, una de células cuboidales, adyacente al blastocele, denominada hipoblasto y otra de células columnares, adyacente a la cavidad amniótica, denominada epiblasto. Esta estructura formada por ambas capas constituye el disco germinal que, como su nombre indica, va a dar origen al embrión.

La gastrulación comienza con la formación de una hendidura en la zona caudal del disco germinal, la denominada estría germinal, que termina aproximadamente en el centro del disco, formando una pequeña cavidad, el denominado nódulo primitivo. Este último constituye el primer organizador, puesto que segrega el primer morfógeno, el Fgf8 (“fibroblast growth factor 8”), el cual inicia la gastrulación al establecer las tres capas germinales, a saber: ectodermo, mesodermo y endodermo. En realidad, la única capa nueva va a ser el mesodermo, puesto que el ectodermo procede del epiblasto y el endodermo del hipoblasto. El mesodermo se genera a partir de células del ectodermo que “resbalan” por

la estría primitiva, penetrando entre las dos capas existentes inicialmente. A nivel molecular, la generación del mesodermo está dirigida por el Fgf8, que inhibe la síntesis de cadherina E, lo que separa a estas células de sus compañeras, promoviendo su migración hacia el interior. Asimismo, el Fgf8 induce en estas células el gen *brachyury* o gen *T*, lo que especifica a estas células como células de mesodermo. Por consiguiente, el Fgf8 es el responsable de la formación de las tres capas germinales, de donde van a proceder todos los tejidos del embrión. Por otro lado, el Fgf8 genera un nuevo organizador a la izquierda del nódulo primitivo, el nodo, que libera un morfógeno denominado nodal, que mediante la inducción del gen *Lefty 2* y, subsecuentemente, del *PITX2*, especifica la izquierda del embrión.

El siguiente paso es la secreción por parte del nódulo primitivo de nuevos morfógenos, el goosecoid (“gooseberry” + “bicoid”), la cordina, la noggina y la folistatina, los cuales van a ser los responsables de la creación de la placa neural, es decir, la zona del ectodermo del disco germinal que va a dar origen al neuroepitelio y, por consiguiente, al sistema nervioso. Estos morfógenos difunden desde el nódulo germinal hacia la zona rostral del disco, inhibiendo la acción de las BMP 2 y BMP 3 (“bone morphogenic proteins”), que son los factores morfogénicos de la epidermis. La zona más rostral de la placa neural está protegida por otros morfógenos especiales procedentes de la zona rostro-ventral del endodermo, concretamente del organizador AVE (“anterior ventral endoderm”). Este organizador secreta cerberus, que, como su nombre indica, cuida de que la parte rostral de la placa neural no reciba señales en esta etapa, con objeto de que pueda desarrollarse libremente más tarde como telencéfalo.

Mientras tanto, en el endodermo se está creando la notocorda, una estructura en forma de cordón que se sitúa bajo

la placa neural y que va a ser uno de sus principales organizadores. Para ello, células del endodermo central proliferan y se desprenden formando la notocorda, que va a ser el eje externo del tubo neural. De hecho, la placa neural comienza a doblarse en sitios específicos para plegarse en forma de tubo. Estos plegamientos se consiguen en el lugar de contacto con la notocorda, así como en otros dos puntos más distantes, gracias al estrechamiento y consiguiente pinzamiento de determinadas células. La formación del tubo neural está, asimismo, condicionada por el reconocimiento intercelular debido a las diferentes cadherinas que expresan las células epidérmicas (cadherinas E) y neuroepiteliales (cadherinas N). Las cadherinas serán, asimismo, importantes en la formación de las células de la cresta neural, que son las que quedan fuera del tubo y que darán origen al Sistema Nervioso Periférico. A los dos flancos del tubo neural el mesodermo forma unas estructuras discretas llamadas somitas, que serán la fuente del principal morfógeno del romboencéfalo, el ácido retinoico.

Diferenciación rostrocaudal

Una vez finalizado el cierre del tubo neural tiene lugar la segmentación del tubo en lo que se denominan rombómeros. Se trata de ocho divisiones del romboencéfalo, que juegan un papel importante en el diseño de las regiones del cerebro. De hecho, las primeras neuronas crecen en rombómeros alternativos, comenzando por los rombómeros impares y siguiendo por los pares, constituyendo unas estructuras de repeticiones de dos segmentos que constituyen el perfil de crecimiento de las primeras neuronas. Sin embargo, más avanzado el desarrollo, las neuronas pueden migrar de un rombómero a otro, puesto que éstos dejan de ser distin-

guibles. Por consiguiente, los rombómeros son compartimentos propios del desarrollo que desaparecen en el adulto. Así, durante el desarrollo, las neuronas de un rombómero permanecen dentro de él para alcanzar localizaciones específicas. En este sentido, la segmentación del romboencéfalo en rombómeros parece ser intrínseca de esta parte del neuroepitelio y, supuestamente, es debida a diferentes moléculas de reconocimiento de superficie, que reconocerían a la células de su propio rombómero y no a las del rombómero adyacente. Aunque es en el romboencéfalo en el que la segmentación es más aparente, la compartimentación también tiene lugar en el telencéfalo. En este caso se observan 6 ó 7 neurómeros, aunque su significado no está claro. Es más, se piensa que el telencéfalo y el diencefalo están organizados en una serie de “parches” que pueden extenderse longitudinal o transversalmente.

La segmentación del romboencéfalo en rombómeros se lleva a cabo por la expresión de dos genes diferentes del grupo *Krox-20* (homólogo de *EGR2*: “early growth response”), es decir, el *Sek-1* (“SAPK/ERK kinase-1”: “stress-activated protein kinase/extracelular-signal regulated protein kinase”), que se expresa en los rombómeros impares y el *Elf-2* (efrina B2), que lo hace en los pares. Este hecho crea clones celulares con diferentes proteínas de adhesión y/o reconocimiento, que quedan confinados en las zonas que más tarde darán lugar a los rombómeros. Las particiones entre rombómeros se consolidan posteriormente (del estado 13 embrionario en adelante) mediante la creación de separaciones estables, que tienen lugar por la expresión local del gen denominado *Plzf* (“promyelocytic leukemia zinc finger”), que codifica un factor de transcripción en dedo de zinc. En las zonas delimitadoras se sintetizan condroitín sulfato y vimentina, creando ambos el límite material entre rombómeros.

El desarrollo de los rombómeros se lleva a cabo mediante la expresión de los genes *Hox* (“homeobox”), equivalentes en vertebrados a los del selector homeótico de *Drosophila*. En ellos se cumple el principio de colinearidad, que consiste en que estos genes están agrupados de forma que se ordenan 3’ a 5’ en el DNA, siguiendo el mismo orden que va a determinar la diferenciación de los rombómeros en el axis anteroposterior. Los genes *Hox* se inducen por un gradiente de ácido retinoico, procedente de los somitas que flanquean el tubo neural. Así, los somitas crean un gradiente de ácido retinoico gracias a un delicado balance entre la actividad de las enzimas Cyp26 (“retinoic acid inducible cytochrome P450”), enzima clave en la síntesis del ácido retinoico, y de la Raldh2 (“retinaldehyde dehydrogenase”), principal responsable de su degradación.

El gradiente de ácido retinoico se extiende por los rombómeros en dirección 7 a 2 (el rombómero r1 no posee genes *Hox*), diferenciando los rombómeros a través de la inducción de los genes *Hox*. Dado que estos genes son más sensibles al ácido retinoico cuanto más cercanos estén al extremo 3’ del DNA, son los genes *Hox* situados a la cabeza del grupo los primeros en inducirse, mientras que los situados hacia el extremo 5’ lo hacen tardíamente o permanecen silentes. De esta manera, y dado que el rombómero 7 recibe más retinoico, se expresarán en él todos los genes *Hox*, mientras que en los siguientes tendrá lugar un gradiente de expresión encabezado por los cercanos a 3’ y decreciendo su expresión conforme se alejan de este extremo. De esta manera se cumple el principio de colinearidad, puesto que en el rombómero 2 (el primero en contener genes *Hox* inducibles) se expresan más los genes *Hox* próximos a 3’, mientras que en el rombómero más caudal, el rombómero 7, se expresan también los menos sensibles al ácido retinoico, es decir, los próximos

a 5'. Los genes *Hox* responden al ácido retinoico, gracias a que contienen en sus promotores elementos que responden a este morfógeno, denominados RAREs (“retinoic acid responsive elements”) y RXREs, los que a su vez reconocen los receptores nucleares de la familia RAR y RXA, que se activan por su unión al ácido retinoico.

La zona caudal del tubo neural, destinada a formar la espina dorsal (rombómero 8), sufre una segmentación en cierta manera similar a la del romboencéfalo, aunque el mecanismo de segmentación es diferente. La segmentación se produce mediante la formación de los esclerotomos. Estas divisiones equivalen a los rombómeros del romboencéfalo, si no fuera porque dirigen una segmentación diferente, ya que no contienen diferentes tipos de células en compartimentos estancos. Por otro lado, los extremos rostrales de los esclerotomos reclutan células de la cresta neural, que darán lugar a neuronas motoras del Sistema Nervioso Periférico. Es más, en los extremos rostrales está permitido el crecimiento de los axones que van a dar lugar a los nervios motores. Por el contrario, en los extremos caudales se segregan glicoproteínas, que no sólo impiden la migración de las células de la cresta en sus alrededores, sino que, además, causan el colapso de los “conos de crecimiento”, es decir, las zonas donde se inicia el crecimiento de los axones. Esta bipolarización antero-posterior de los esclerotomos crea la segmentación de la espina dorsal correspondiendo con la segmentación del resto del cuerpo, incluida su inervación. Así, aunque no existe una segmentación propiamente dicha del neuroepitelio caudal, las neuronas motoras se sitúan en columnas discontinuas, emergiendo de ellas neuronas diferentes si se trata de la zona branquial o lumbar. Por consiguiente, en la zona caudal existe una segmentación similar a la del romboencéfalo. En este caso, la segmentación en diferentes clases de neuronas se debe

a la expresión diferencial de la caja homeótica denominada LIM (acrónimo de los genes *Lin11*, *Isl1* y *Mec3*), que codifica proteínas con zonas de dobles dedos de zinc denominadas LIM.

Diferenciación dorsoventral

La responsable última de la diferenciación dorsoventral es la notocorda, que corre paralela a lo largo de la zona ventral del tubo neural, desde su extremo caudal hasta el comienzo del diencéfalo. De hecho, las células del neuroepitelio cercanas a la notocorda generan una clase específica de glía, que forma una estrecha franja de células que corre a todo lo largo del tubo neural hasta alcanzar el comienzo del diencéfalo y que se denomina placa basal. La diferenciación dorsoventral producida por la notocorda no finaliza aquí, sino que en las zonas próximas a la placa basal comienzan a diferenciarse neuronas motoras, en segmentos que recorren el tubo neural desde el extremo caudal hasta el mesencéfalo (oculomotoras), derivan en neuronas eferentes acústico-vestibulares en la frontera de los rombómeros 4 y 5, o se diferencian en neuronas serotoninérgicas en el rombómero 1 y dopaminérgicas en la zona caudal del mesencéfalo. En resumen, la notocorda induce la diferenciación celular, primero por la formación de la glía de la placa basal y, posteriormente, por la diferenciación de las primeras neuronas, que se transforman en neuronas motoras, serotoninérgicas, dopaminérgicas, etc.

El efecto diferenciador de la notocorda es debido a la expresión de una proteína denominada SHH (“sonic hedgehog”). Esta proteína difunde a partir de la notocorda induciendo la diferenciación celular próxima para formar las

células de la placa basal. La SHH es, en realidad, un precursor que se rompe por autoproteólisis en dos fragmentos, el extremo N-terminal (SHH-N), causante de la diferenciación y el extremo C-terminal (SHH-C), de importantes funciones reguladoras. De hecho, la activación de la SHH incluye, además de la proteólisis, la adición de una molécula de colesterol en la fracción N-terminal y una de ácido palmítico en el extremo C-terminal. Por otro lado, el extremo C-terminal es activador de la proteólisis del propio precursor SHH y funciona, además, como fijador del extremo N-terminal activo a la superficie de la notocorda. La secreción de la SHH en la superficie de la notocorda produce un gradiente diferenciador, muy alto en las células próximas, que derivan en glía de la placa basal, y mucho menor en las células neuroepiteliales adyacentes. Esta señal, “templada” por la retención de la SHH en los alrededores de la placa basal, es la clave para la diferenciación de las neuronas motoras en los segmentos correspondientes del tubo neural.

Es muy importante destacar que la señal de la SHH es idéntica a lo largo de toda la placa basal, de manera que el destino de las células a lo largo del tubo neural está predeterminado con anterioridad, seguramente por la diferenciación anteroposterior producida por el ácido retinoico. En este sentido, la SHH induce neuronas dopaminérgicas en el mesencéfalo porque éstas ya estaban predeterminadas y los explantes siguen diferenciándose a las neuronas previstas en origen, con independencia del lugar del tubo neural donde se inserten artificialmente. La diferenciación de la placa basal se lleva a cabo por la inducción, mediada por SHH, del factor de transcripción en hélice alada HNF3beta (“hepatocyte nuclear factor”), que es un marcador de la diferenciación de la placa basal, así como del gen homeótico *Nkx2.1*, un marcador de las células ventrolaterales del tubo

neural. La SHH también reprime los genes homeóticos *Msx-1* y *Pax-3*, lo que sugiere que la inactivación de ciertos genes también juega un papel esencial en el desarrollo dorsoventral del tubo neural.

La señal SHH se difunde por la placa basal a las células adyacentes, alcanzando débilmente al neuroepitelio próximo, donde induce la expresión del gen homeótico *Isl-1*, un gen de la caja LIM, que induce la diferenciación de las neuronas motoras inmediatamente tras su mitosis. Posiblemente el gen *Isl-1* intervenga más en la diferenciación de las neuronas motoras que en la posible predeterminación de su destino, ya que el *Isl-1* interviene, asimismo, en la diferenciación de las interneuronas.

Como se ha mencionado antes, la notocorda se extiende desde el extremo caudal hasta la mitad del diencefalo. En este sentido, la inducción de neuronas motoras tiene un límite claro en la frontera del mesencefalo y el diencefalo. Sin embargo, a pesar de la falta de notocorda, la diferenciación dorsoventral continúa hasta el extremo rostral, incluyendo toda la zona ventral del diencefalo y el telencefalo. Por consiguiente, cabe preguntarse qué mecanismo subyace en la diferenciación dorsoventral en las zonas rostroventrales del tubo neural. La respuesta es bien sencilla: la SHH se expresa a lo largo de la línea ventral del diencefalo y el telencefalo, extendiéndose lateralmente en dos alas, es decir, en el denominado mesodermo precordial (véase más adelante). Es más, las células ventrales de esta zona expresan *Isl-1*, aunque su inducción no resulta en la aparición de neuronas motoras, tal como tenía lugar en zonas más caudales. Este hecho indica, además, que el gen *Isl-1* es más un marcador general de la diferenciación dorsoventral que específico de las neuronas motoras. Sin embargo, las células ventrales del mesencefalo y telencefalo, que expresan *Isl-1*, también muestran actividad

del *Nkx-2.1*, un gen específico del Sistema Nervioso Central y no de neuronas motoras, lo que pone de manifiesto, una vez más, que la señal SHH induce la diferenciación específica anteroposterior, de manera que en cada zona aparecen las células anteriormente predeterminadas.

La diferenciación dorsoventral del diencefalo y telencefalo es, sin embargo, más sofisticada, puesto que el diencefalo controla la diferenciación del telencefalo. Así, la SHH se expresa primero en el diencefalo ventral y las células rostrales de esta zona inducen el *Isl-1* en las células telencefálicas. Este perfil de diferenciación sugiere la existencia de una interacción “planar” como consecuencia de la difusión caudorrostral de la SHH. En este sentido, está fuera de toda duda que el diencefalo medial controla el desarrollo de ciertas zonas del telencefalo. Así, la SHH induce los genes *Pax-2* y *Pax-6*, responsables del desarrollo del ojo, incluidos la retina, el cristalino y la córnea. Curiosamente estos genes tienen sus homólogos en *Drosophila*, donde desarrollan el ojo compuesto propio de los insectos, el cual no posee cristalino y en donde la imagen se forma mediante pequeños receptores aislados y no asociados entre sí, como en el caso de la retina.

Diferenciación celular

Aparentemente, la neurogénesis es el resultado de la lucha de genes a favor y en contra de la diferenciación neuronal y cuyo resultado es la aparición de un número discreto de células que, por su destino neural, se denominan neuroblastos. En efecto, todo parece indicar que los genes del complejo *Mash* (“mammalian achaete-scute homolog”) y los *Da* (“daughterless”) y *NeuroD* (homólogo del gen *Ato*: “atonal” de *Drosophila*) son los responsables de la diferenciación del

ectodermo en neuroepitelio, mientras que los *N* (“Notch”), *Bib* (“big brain”) y *Dl* (“delta”), así como los *Mam* (“mastermind”), *Neu* (“neuralized”) y, muy particularmente, *Hes* (“enhancer of split complex”) y *REST* (“R1-silencing transcription factor”) se oponen a tal transformación, impidiendo la expresión de aquellas proteínas que dirigen la diferenciación neural.

Sin embargo, esta aparente lucha entre genes es mucho más compleja, puesto que los principales genes a favor de la neurogénesis, es decir, los *Mash*, activan también en cascada los *Dl* y *Hes*, genes que son claramente supresores de la diferenciación del ectodermo en neuroepitelio. Esta aparente paradoja se resuelve si contemplamos el proceso dividido en dos etapas y en dos células diferentes. En la primera, se inducen los genes proneurales *Da* y *Mash*, cuyos productos de expresión son bHLH (“basic helix-loop-helix”), es decir, proteínas nucleares pertenecientes a los factores de transcripción de la familia HLH, llamados así por su estructura terciaria característica. Pues bien, estos factores de transcripción inducen la expresión de las proteínas neurales, mientras que inhiben la síntesis de todas aquellas de carácter puramente ectodérmico. Sin embargo, en una segunda etapa, la sobrexpresión de *Mash* activa al gen *Dl*, que codifica la proteína DL, una proteína situada en el exterior de la membrana celular. Cuando la proteína DL interacciona con el receptor N (codificado por el gen “*Notch*”) de una célula adyacente, se libera la proteína Su(H) (“supresor of hairless”) de su secuestro por parte de la deltex. La Su(H) liberada induce el gen *Hes* y, posiblemente, los *Mam* y los *Neu*, todos ellos inhibidores de la neurogénesis. Con estos datos se puede conjeturar que la interacción entre la proteína de membrana DL y el receptor N puede que tenga lugar entre diferentes células que, al “reconocerse”, evitan la diferenciación de la adyacente. De esta

manera se limitaría la neurogénesis, con objeto de generar una zona discreta para el neuroepitelio. Así, en un primer momento se activarían los genes *Mash*, lo que llevaría a un grupo de células a diferenciarse en neuroblastos. Sin embargo, transcurrido cierto tiempo, la subsiguiente activación de los genes *Dlx* y *Hes* prohibiría la diferenciación de las células vecinas, creando una solución de continuidad entre el ectodermo y neuroepitelio. Se trata, por consiguiente, de una lucha entre los genes que promueven la neurogénesis contra aquéllos que se oponen a ella. Esto es lógico si se piensa que, con excepción de las células del tejido nervioso, las células de los demás tejidos tienen que prohibir la expresión de los genes neurogénicos, so pena de comenzar un proceso diferenciador que las conduciría por el camino no deseado y, en el mejor de los casos, a la apoptosis.

Para evitar que se active de manera fortuita, la neurogénesis está inhibida de manera redundante en los progenitores neurales. Así, los factores de transcripción de los grupos Hes (“enhancer of split”) e Id (“inhibitor of DNA binding”) inhiben la neurogénesis a través de la inhibición de la transcripción de los genes proneurales *Mash* y *Ngn* (*neurogenina*). Los Hes inhiben la neurogénesis a través de dos mecanismos. Por un lado, actúan del modo “clásico”, es decir, inhiben la transcripción de los genes proneurales por interacción con el promotor en los elementos *cis* correspondientes, en este caso los denominados *cis*-Hes. Pero asimismo, actúan a través de mecanismos epigenéticos mediante la activación de las HDACs (histona desacetilasas). Esto último resulta en la hipacetilación de las histonas relacionadas con los promotores de los genes proneurales *Mash* y *Ngn*, lo que previene la neurogénesis precoz. Por lo que respecta a los Id, el mecanismo de inhibición es diferente. Así, los Id no se unen *per se* al DNA sino que, por el contrario, impiden la unión de los

bHLH proneurales a sus elementos *cis* en el promotor, lo que resulta en la inhibición de la neurogénesis.

Otro importante inhibidor de la neurogénesis es REST (“R1 silencing transcription factor”, también conocido como NRSF: “neuron-restrictive silencer factor”), que se une a los elementos *cis*-RE1 de los promotores de los genes proneurales *Mash* y *Bdnf*. El REST es un factor de transcripción inhibidor que se une al elemento RE1 del promotor mediante ocho dedos de zinc. Por su extremo amino-terminal se une a mSin3 que, a su vez, recluta HDACs (histona desacetilasas), formando un complejo represor. En este sentido, la acción de REST requiere siempre la actividad de las HDACs, puesto que la inhibición de las desacetilasas promueve *per se* la neurogénesis. Por su extremo carboxilo-terminal el REST se une al CoREST, un correpresor que recluta HDACs, LDS1 (histona H3 (lisina 4) desmetilasa) y G9A (histona H3 (lisina 9) metiltransferasa), formando un complejo silenciador de genes.

Por otro lado, la inhibición de la actividad de REST se lleva a cabo por degradación postranscripcional, por inhibición de su transcripción causada por ácido retinoico, por inhibición de las HDACs o, finalmente, por interacción con sRNAs (“small RNA”), dependiendo, posiblemente, de la región del Sistema Nervioso de que se trate. Sea como fuere, la inactivación de REST coincide con su liberación del elemento RE1 y la inducción de genes neurogénicos, tales como *Mash1*. Por otro lado, la inducción de la neurogénesis coincide con el aumento de NRSE dsRNA (“neuron-restrictive silencing element double strand RNA”), un microRNA de doble cadena. La interacción de NRSE dsRNA con REST causa la liberación de los factores represores unidos a las islas CpG, tales como la MeCP2 (“methyl-CpG binding protein 2”) y la inhibición de las HDACs, lo que promueve la

acetilación de las histonas y la expresión de los genes protegidos. Así, el antisentido del NRES dsRNA inhibe la neurogénesis en los progenitores, lo que sugiere que la inducción del NRSE dsRNA es imprescindible para la neurogénesis. Por último, la actividad de REST se reduce por la expresión de BRAF35 (“BRAC2; “Breast cancer type 2 susceptibility protein”, associated factor 35”), un correpresor de REST. BRAF35 desplaza a iBRAF (proteína inhibidora de BRAF35), que estaba unida a REST y forma con él un heterodímero BRAF35-iBRAF. Este nuevo complejo recluta a la MLL (“myeloid lymphoid leukemia”), una histona metiltransferasa específica de la histona H3K4. Todo ello resulta en la inhibición de REST y la inducción de genes neurogénicos, tales como *NeuroD*.

Finalmente, la neurogénesis se inicia con la inducción de los factores de transcripción bHLH proneurales, tales como las neurogeninas (Ngn1 y Ngn2), *NeuroD*, *Mash1*, NDRF (“*NeuroD*-related factor”) y *Nex* (también llamado *MATH2*). Estos factores de transcripción forman heterodímeros con la E2A, una proteína ubicua, y se unen a sus elementos *cis*-E de los promotores, poniendo en funcionamiento el programa neurogénico. La inducción de estos factores de transcripción coincide con cambios sustantivos en las marcas epigenéticas. Así, en los alrededores del promotor de *Mash1* disminuye la metilación de ciertas histonas (H3K27me3), mientras que aumenta la acetilación de otras (H3K9), lo que, en su conjunto, resulta en la expresión de *Mash*. Por otro lado, los bHLH proneurales promueven la diferenciación neuronal a través de BAF (“Brg/Brm-associated factor”), un complejo remodelador de cromatina similar a SWI/SNF (Switch/Sucrose Non Fermentable) de levaduras. Así, Ngn1 y *NeuroD* se unen a Brg1 (“Brahma-related gene 1”), una ATPasa del complejo BAF y promue-

ven la diferenciación neuronal. La unión de *Ngn1* y *neuroD* con BAF coincide con cambios en otras subunidades de BAF relacionadas con la diferenciación neuronal.

Además del NRSE dsRNA antes mencionado, otros microRNAs intervienen en la diferenciación neuronal. Así, el miR-124, un microRNA específico del cerebro, aumenta progresivamente durante la diferenciación neuronal, persistiendo en las neuronas maduras. Por lo que conocemos hasta el momento, el miR-124 promueve la diferenciación neuronal a través de dos mecanismos. El primero de ellos consiste en la regulación del espliceosoma, de tal manera que su presencia promueve la permanencia de los exones proneurales. Este proceso se lleva a cabo gracias a que el miR-124 promueve la expresión de PTBP2, un inhibidor de PTBP1, que es el causante de la eliminación de los exones proneurales. El segundo de esos mecanismos consiste en la inducción por miR-124 de la degradación de uno de los componentes no proneurales de REST, es decir, la SCP1 (“small C-terminal domain phosphatase 1”). De hecho, la SCP1 está presente en las células no neurales con objeto de inhibir los genes proneuronales. Esto explica por qué la sobreexpresión de miR-124 produce la expresión de *Ngn2* y *NeuroD*, lo que causa la diferenciación precoz de las neuronas. Asimismo, el promotor del miR-124 tiene elementos *cis*-RE1, por lo que su transcripción se inhibe por REST. Este hecho sugiere que, una vez que la transcripción del miR-124 se inicie, la inhibición de REST potenciará la transcripción de miR-124, iniciando la neurogénesis. Es necesario resaltar que otros miRNAs (miR-200 y miR-133b) también intervienen en la neurogénesis aunque lo hacen en neuronas específicas y por mecanismos que aún no conocemos en detalle.

La conversión del ectodermo en neuroepitelio lleva consigo el cambio del destino celular hacia células proneurales.

Esta transición tiene lugar muy al principio del desarrollo ontogénico, cuando se crea la placa neural. Pues bien, cuando, acto seguido, la placa se pliega para formar el tubo neural, tiene lugar la primera diferenciación de los progenitores neurales. Así, las células de la placa que quedan excluidas en el exterior del tubo neural, las denominadas células de la cresta, van a dar lugar al Sistema Nervioso Periférico, gracias a su transformación en progenitores específicos. Esta transición está inducida por el GGF (“glial growth factor”) e incluye la inducción de genes tales como *Wnt* (“wingless integration site”), *En* (“engrailed”), *Pnt* (“pointed”) y *Gcm* (“glia cell missing”). Sin embargo, las células restantes, es decir, las células que conforman el tubo neural, siguen otro camino con objeto de desarrollar el Sistema Nervioso Central. De hecho, a lo largo del desarrollo del Sistema Nervioso, los progenitores neurales se transformarán en neuronas por el complejo mecanismo mencionado anteriormente o virarán hacia progenitores gliales, dando lugar a los astrocitos y a los oligodendrocitos. Posiblemente, la diferenciación entre astrocitos y oligodendrocitos se lleva a cabo a través de unos progenitores secundarios denominados O2A (“oligodendrocyte-type 2 astrocyte”), aunque la presencia de estos últimos no ha podido demostrarse *in vivo*. Este proceso comenzaría por la generación de astrocitos tipo 1 y progenitores O2A a partir de los progenitores gliales. Posteriormente, los O2A generarían oligodendrocitos gracias a la NT-3, una neurotrofina liberada por los astrocitos tipo 1, o bien astrocitos tipo 2 por acción del CNTF (“ciliary neurotrophic factor”).

Sin embargo, la primera decisión que deben tomar los neuroblastos del neuroepitelio es si formarán neuronas o se transformarán en progenitores gliales. En este sentido, los factores bHLH proneurales cumplen también una función

esencial en la transformación de neurona en glía. Así, la expresión de *Ngn1* inhibe el efecto gliogénico del CNTF, impidiendo la generación de astrocitos. Este efecto no es directo sino a través de un mecanismo epigenético consistente en el secuestro de la CBP/p300, una histona acetil transferasa, así como de la Smad1, una proteína intermediaria de la señal de las BMPs (“bone morphogenic proteins”). Esto último dificulta las interacciones de estos factores con STAT3 (“signal transducer and activator of transcription 3”), un complejo cuya actividad es esencial para la gliogénesis.

Por otro lado, antes de iniciarse la gliogénesis la MeCP2 (“methyl-CpG binding protein”) está unida a las islas CpG cercanas a los promotores de *Gfap*, *Stat1* y *S100B* pero no a *Stat3*. Sin embargo, cuando la gliogénesis se inicia, la MeCP2 se une a la islas CpG cercanas a *Stat3*, liberándose de las adyacentes a *Gfap*, *Stat1* y *S100B*. Las islas cercanas a estos últimos genes se desmetilan, lo que resulta en la transcripción de los genes gliogénicos y la consiguiente transición neurona-glía.

Desarrollo del telencéfalo

El desarrollo del telencéfalo comienza por el extremo rostral inducido por el organizador ANR (“Anterior Neural Ridge”) o cresta neural anterior, que produce Fgf8, el cual se extiende por lo que va a ser el telencéfalo, activando la síntesis de Foxg 1, un factor de transcripción que configura el área telencefálica. Ahora el telencéfalo se diferencia intrínsecamente gracias a la inducción de los factores de transcripción de tipo bHLH, Ngn (neurogeninas 1 y 2) y el de tipo de dedo de zinc Gli3 (glioblastoma 3), en la zona palial, mientras que se inducen los de tipo bHLH, Mash, en la zona

subpial. Los primeros contrarrestan la acción de los segundos, diferenciando claramente las zonas pial y subpial del telencéfalo. La zona pial refuerza su diferenciación mediante la inducción del gen *Lhx2*, un gen perteneciente a la caja LIM (acrónimo de los genes *Lin11*, *Isl1* y *Mec3*), cuyo producto de expresión determina la zona ventricular, origen de la corteza cerebral o córtex. La zona ventricular continúa su diferenciación en la zona ventricular subpial, generando el sistema límbico. Estos cambios se llevan a cabo dirigidos por el factor de crecimiento TGFalfa que, a través del receptor erbB, induce la síntesis de la proteínas LAMP (“limbic system-associated membrane protein”).

El segundo organizador del telencéfalo es el mesodermo precordial, situado en la zona ventral. Mediante la SHH promueve la formación de la línea media dorsal (tectal) que divide a los hemisferios. La diferenciación se lleva a cabo con la colaboración de los factores de transcripción, *Six3*, *Zic2* y *TGIF* (“Transforming Growth Interacting Factor”). La SHH y el *TGIF* se expresan en la zona ventral, mientras que el *Six3* lo hace en la rostral y el *Zic2* en la dorsal.

La línea media de la placa tectal generada por la acción del mesodermo precordial promueve, a su vez, la formación del tercer organizador del telencéfalo, es decir, el pliegue cortical. Este hecho se lleva a cabo mediante las BMPs (“bone morphogenic proteins”) segregadas por las células de la línea media de la placa tectal. Este es un paso muy importante, porque el pliegue cortical activa al gen *Wnt3* (“wingless integration site”) que expresa un factor de transcripción, *Lef1*, que promueve la expansión de la zona ventricular próxima al hipocampo. Finalmente las áreas posteriores del córtex (visual e hipocampo) se determinan por el gen *Emx2* (“empty spiracles”), mientras que las anteriores (motoras) por el gen *Pax6* (“paired box”).

Desarrollo del córtex

Durante el desarrollo embrionario el tubo neural está formado por una capa de células que permanece más o menos estable hasta que el tubo neural se ha diferenciado, mostrando lo que serán las partes futuras del Sistema Nervioso en lo que se ha denominado “tubo neural en cinco vesículas”. Llegado este momento, se inicia la proliferación celular del epitelio comenzando por la zona más cercana al ventrículo, es decir, la denominada zona ventricular. De hecho el neuroepitelio está formado por una sola clase de células alargadas que, en un momento dado, retraen sus procesos hacia la zona ventricular, donde entran en mitosis. Las primeras células en diferenciarse son las células gliales radiales, que extienden sus procesos perpendicularmente a la superficie del neuroepitelio a la que, finalmente, alcanzan. De esta manera, extienden sus procesos en toda la anchura del neuroepitelio, constituyendo el “andamio” por el que las neuronas van a trepar en busca de destinos más lejanos. En efecto, las neuronas primordiales se disponen en estratos y comienzan a avanzar hacia la superficie del neuroepitelio, trepando por los procesos de las células gliales radiales para, finalmente, constituir las diversas capas en las que se distribuyen las células en el córtex.

Gracias a que las células gliales radiales poseen un antígeno específico, denominado RC2 (“intermediate filament-associated protein”; Ifaprc2), de aparición precoz, se conoce que la diferenciación de las células gliales radiales es el fenómeno que inicia la neurogénesis. En la zona ventricular las neuronas proliferan, y cuando salen de la mitosis generan una capa en la que se excluyen los núcleos, denominada zona marginal, que está destinada a ser la más lejana del ventrículo cuando termina la diferenciación definitiva de la

corteza cerebral. En este estadio, por consiguiente, el neuroepitelio está formado por dos zonas: la zona germinal cercana al ventrículo y, por encima de ella, la zona marginal, formada por los axones emitidos por las neuronas próximas a la zona germinal.

En este momento algunas neuronas empiezan a alejarse del ventrículo, atraviesan la zona marginal y forman un nuevo estrato denominado preplaca. Entre los axones de la zona marginal y la preplaca aparece un nuevo estrato, denominado zona intermedia. Esta última zona constituirá el contacto de la corteza con el hipotálamo, una vez finalizada la diferenciación del Sistema Nervioso Central. En resumen, al finalizar esta etapa, el neuroepitelio está formado por tres capas: la zona ventricular, formada por las células proliferativas multipotenciales, la zona intermedia, formada por axones y la preplaca, formada por las neuronas postmitóticas. El proceso continúa mediante la aparición de más neuronas en la zona ventricular que, posteriormente, migran a través de la zona intermedia a la preplaca, a la que expanden formando la placa cortical. Esta última queda limitada por una nueva zona denominada subplaca, contigua a la zona intermedia, mientras que por el extremo superior le cubre la zona marginal definitiva.

Finalizada la diferenciación, la placa cortical formará los estratos de la corteza cerebral, a excepción de la I (la más externa), que corresponderá a la zona marginal definitiva. Por el extremo inferior, la corteza estará limitada por la materia blanca y, sólo en las denominadas “zonas germinales secundarias” continuará la proliferación. Estas zonas, por su situación próxima al ventrículo y bajo el resto de la corteza, se denominan “zonas subventriculares”. En estos núcleos continuarán la neurogénesis y la gliogénesis durante el período postnatal. De hecho, la neurogénesis secundaria continúa, en el

caso del hombre, hasta los dos años, generando interneuronas, tales como las células granulares del cerebelo e hipocampo. Las interneuronas cerebelosas se forman, asimismo, desde la zona germinal secundaria del cerebelo, aunque ésta última está situada en el exterior de este órgano, puesto que la migración cerebelar es centrípeta. En el proceso de formación de la placa neural intervienen las proteínas de la matriz extracelular, puesto que el déficit de una de ellas, la reelina, segregada por las neuronas de la lámina I del córtex y por las células de Cajal-Retzius, impide la separación de la subplaca de la zona marginal definitiva, impidiendo la formación de la placa cortical y de las circunvoluciones cerebrales.

Para llevar a cabo la migración, la neurona adopta una forma bipolar, fielmente paralela al proceso glial. En el extremo más lejano de su lugar de origen comienzan a generarse unas uniones específicas entre neurona y célula glial, denominadas “uniones intersticiales”. Se trata de una estructura diferente a otras uniones intercelulares, consistente en un ensanchamiento del espacio intermembranal, que es ocupado por numerosos filamentos que se inician desde las proteínas de membrana de las neuronas conectadas con el citoesqueleto. Todo parece indicar que las uniones intersticiales sirven de anclaje a la neurona para iniciar la escalada, que se repite una y otra vez hasta alcanzar la ubicación adecuada. En el proceso glial se expresa una proteína de reconocimiento, denominada astrotactina, que es reconocida por la neurona y que, al parecer, inicia la formación de la unión intersticial. Se trata de una proteína con repeticiones de EGF y de algunos dominios de la fibronectina tipo III. Una vez anclada en el proceso del astrocito, la neurona traslada su soma para avanzar mediante un mecanismo en que intervienen diversos factores, entre ellos una proteína asociada a

los microtúbulos denominada doblecortina. Asimismo, al mismo tiempo se produce la nucleoquinesis, un fenómeno en el que están implicadas varias proteínas, entre ellas la dineína y la proteína codificada por el gen *LISI* (“lissencephaly type-1-like domain-containing protein”).

Sólo las neuronas que van a llevar a cabo la migración tangencial abandonan el andamio glial, mientras que la mayoría continúan hasta alcanzar el estrato previsto. Un hecho fundamental dentro de la migración radial es que cuanto más jóvenes sean las neuronas, más lejano será su lugar de residencia definitivo, de manera que las primeras que salen de la zona germinal ventricular ocupan los lugares más cercanos, mientras que las que se generan posteriormente alcanzan estratos más externos. Es necesario destacar que el andamio glial es permisivo y no instructivo en cuanto a la diferenciación neuronal. Es decir, que las células gliales radiales permiten la migración de las neuronas pero no determinan ni su lugar de residencia ni sus características fenotípicas. En este sentido, la migración neuronal puede consistir en una serie de interacciones célula-célula, en las que la neurona llevaría consigo sus destinos tópico y fenotípico, usando la glía sólo como guía y soporte. De ser así, la neurona, al detectar la astrotactina, generaría una señal inductora de la síntesis de todas aquellas proteínas necesarias para la migración, mientras que mantendría una señal en la glía para que colaborara en su movimiento. Una vez alcanzado su lugar de destino, la propia neurona silenciaría los mecanismos de migración propios, así como los de la célula glial radial.

La formación de las capas de la corteza cerebral está condicionada por los estratos previamente existentes. Así, las primeras células en proliferar darían origen a la lámina VI, es decir, a la más cercana a la zona ventricular. La diferenciación final de estas células vendría controlada por factores tróficos

procedentes de la zona ventricular. Una vez ocupada la primera capa, las células de ésta liberarían factores que marcarían el desarrollo de las células que, procedentes de la zona ventricular, ocuparían la segunda capa. Los factores tróficos procedentes de la primera capa no germinativa regularían la diferenciación de la capa que la cubre, y así sucesivamente. Por consiguiente, cada célula diferenciada liberaría los factores neurotróficos necesarios para la diferenciación de la siguiente capa, generándose un gradiente de factores que pondrían en funcionamiento la expresión de grupos de genes (“subrutinas”) que originarían las características tópicas y fenotípicas propias de cada capa. La diferenciación de cada una de las capas dependerá de las subrutinas puestas en funcionamiento y del orden en que éstas son inducidas.

El cerebro del recién nacido humano sigue su crecimiento durante el período postnatal, multiplicando por cuatro su peso debido a la proliferación neuronal y glial, con el correspondiente crecimiento de axones, dendritas y procesos gliales. Por otro lado, la mielinización es un proceso eminentemente postnatal, contribuyendo muy sensiblemente al aumento del volumen y del peso del cerebro del neonato. Este crecimiento se corresponde con un aumento del volumen del cráneo, a la vez que existe un aumento de las circunvoluciones cerebrales, aprovechando eficientemente el espacio disponible. Así, en la etapa postnatal, concretamente durante el primer año, se desarrollan totalmente los denominados surcos terciarios, es decir, las circunvoluciones cerebrales que han aparecido durante los dos últimos meses de la gestación.

La neurogénesis “secundaria”, llamada así porque tiene lugar en la segunda fase de proliferación neuronal, es característica de los vertebrados y en el hombre tiene lugar durante el período postnatal. De hecho, durante la fase postnatal de

la neurogénesis se genera un importante número de poblaciones neuronales de gran importancia en el desarrollo final del Sistema Nervioso Central. La proliferación neuronal secundaria se lleva a cabo en las denominadas “zonas germinales secundarias”, áreas del cerebro y del cerebelo que continúan generando neuronas hasta el segundo año de vida. En el recién nacido, la corteza cerebral está limitada en su extremo inferior por la materia blanca que, excepcionalmente, se interrumpe por las zonas germinales secundarias que, por su situación próxima al ventrículo y bajo el resto de la corteza, se denominan zonas subventriculares. En el caso del cerebelo, estos núcleos o zonas compactas están situados cercanas al labio rómbico, siendo la migración de la nuevas neuronas de carácter centrípeto y no centrífugo, es decir, siguiendo un comportamiento similar al de las neuronas “primarias”.

En estas zonas del cerebro y del cerebelo la neurogénesis y gliogénesis continúan durante el período postnatal, prolongándose en el caso del hombre hasta los dos años de vida. En el cerebro, las zonas subventriculares dan origen a neuronas que emigran al bulbo olfatorio o forman las células granulares del hipocampo, aunque también se forman células gliales de la corteza. En el cerebelo, las zonas germinales subventriculares dan lugar a interneuronas, mientras que las del labio rómbico generan células granulares, que formarán la capa granular interna del cerebelo. Las neuronas “secundarias” generadas en esta segunda fase se intercalan en las estructuras ya existentes creadas durante la neurogénesis primaria, completando así la compleja estructura del Sistema Nervioso Central.

El crecimiento postnatal del número de neuronas tiene lugar principalmente en el córtex, donde, dependiendo de las zonas, el crecimiento neuronal continúa hasta los cinco

meses, como en el caso de la corteza visual, o hasta los siete años, como en el córtex frontal. La proliferación neuronal se acompaña del crecimiento de las dendritas, lo que indica que la diferenciación sigue a la proliferación. Así, el número de espinas dendríticas, aquellas estructuras donde se realizan las sinapsis, aumenta hasta los cinco meses en la corteza visual, coincidiendo con la neurogénesis. De hecho, el número de sinapsis crece exponencialmente tras el nacimiento, multiplicándose por dos entre el segundo mes y el final del primer año. Asimismo, el consumo de glucosa, un excelente índice del metabolismo energético, aumenta significativamente hasta el cuarto año, lo que refleja el esfuerzo sinaptogénico que se lleva a cabo durante este periodo.

La proliferación celular y la neurogénesis continúan en las paredes laterales de los ventrículos laterales durante la vida postnatal, particularmente en las zonas cercanas a las eminencias ganglionares media y lateral. En los roedores, la denominada zona ventricular, única capa del córtex durante la fase embrionaria, continúa proliferando durante la vida postnatal. Así, las células de esta zona entran en fase S y migran hacia el lumen ventricular donde se dividen. En el momento del nacimiento la zona periventricular granular es muy extensa, diferenciándose dos zonas, la zona ventricular y la subventricular, también llamada subependimal. La zona ventricular se caracteriza por expresar noggina, mientras que la zona subventricular expresa DLX2 (“distal less”), un marcador de “precursores secundarios”. En el momento del nacimiento la mayoría de las células son glías radiales, puesto que expresan RC2, un antígeno específico de estas células, aunque también se observan algunos ependimocitos inmaduros. Muy pocas son GFAP positivas un marcaje específico de los astrocitos de la zona subventricular. A los siete días de vida extrauterina, la proporción de células radiales ha disminuido

a favor de los endimocitos inmaduros, lo que sugiere que las glías radiales han dado origen a las células endimales inmaduras. En este estadio comienzan a aparecer las células GFAP positivas, es decir, los astrocitos de la zona subventricular. Por último, en el día 15 las glías radiales han desaparecido, por lo que la zona ventricular está compuesta por endimocitos maduros e inmaduros. En este momento la mayoría de las células son GFAP positivas, lo que sugiere la presencia mayoritaria de astrocitos propios de la zona subventricular.

Por consiguiente, todo parece indicar que las glías radiales son las células madre neuronales, que se transforman en astrocitos de la zona subventricular durante las dos primeras semanas de vida extrauterina. Algunos de estos astrocitos de la zona subventricular, especialmente aquéllos que contactan con el lumen ventricular mediante un solo cilio, mantienen su capacidad pluripotencial y son la fuente de proliferación neuronal durante la etapa postnatal, incluida la vida adulta. La pluripotencialidad se conserva gracias a un ambiente rico en noggina que inhibe los BMPs (“bone morphogenic proteins”), lo que permite la neurogénesis.

En estas circunstancias la zona subventricular humana está formada por una capa de endimocitos en contacto con el líquido cefalorraquídeo del ventrículo lateral, sobre la que se asienta una capa de astrocitos específicos de esta zona, algunos de ellos provistos de un cilio que contacta con el lumen ventricular. Estas últimas células son las verdaderas progenitoras, que proliferan para dar neuronas que migran tangencialmente sin ayuda de la glía radial, en lo que se ha denominado corriente migratoria rostral. Las células de la corriente migratoria rostral forman cadenas de neuronas alargadas que se mueven dentro de “tubos gliales”, cuyas paredes están formadas por astrocitos que entrelazan sus

procesos delimitando la corriente migratoria rostral de la zona circundante. Dentro de la corriente migratoria rostral, las neuronas se mueven paralelas a la dirección del flujo del líquido cefalorraquídeo que baña la pared del ventrículo lateral, siguiendo el gradiente de una molécula guía. De esta manera, estas neuronas alcanzan el bulbo olfatorio donde se diferencian en, al menos, dos tipos de neuronas.

La corriente migratoria rostral es claramente ostensible en cerebro de rata en el momento del nacimiento, formando una “L” que parte de la zona subventricular en la pared del ventrículo lateral y se dirige ventralmente hacia el estriado, en los alrededores del ventrículo olfatorio para, posteriormente, tomar la dirección rostral hacia el bulbo olfatorio. Más tarde, coincidiendo con la desaparición del ventrículo olfatorio, la corriente migratoria rostral se estrecha progresivamente, formando una “L” que conecta la zona subventricular con el bulbo olfatorio mediante una línea densa de células. Durante el viaje, las células de la corriente están en continua división, observándose un gradiente de proliferación en el sentido caudorrostral, con un máximo en la zona subventricular y un mínimo en el bulbo olfatorio. La corriente migratoria rostral se mantiene durante todo el periodo postnatal y sigue presente en el adulto. Recientemente se ha descubierto la presencia de la corriente migratoria rostral en el cerebro del hombre adulto, cuyas características son semejantes a las mencionadas anteriormente.

Papel del ácido oleico en el desarrollo del Sistema Nervioso Central

Como se ha mencionado antes, gran parte del desarrollo del Sistema Nervioso Central en el hombre tiene lugar durante la etapa postnatal, cuando se lleva a cabo la “neurogénesis secundaria” y la conformación final del hipotálamo, así como la de otras estructuras cerebrales específicas. De hecho, la neurogénesis postnatal ha suscitado un extraordinario interés desde el punto de vista clínico, pues la inmadurez de la zona subventricular es la responsable de la extraordinaria vulnerabilidad del recién nacido al trauma hipóxico-isquémico. Este hecho es especialmente crítico en el recién nacido prematuro, en el que el distrés respiratorio produce tales cambios en la dinámica vascular que puede causar hemorragias subventriculares de efectos deletéreos permanentes.

Resultados procedentes de nuestro laboratorio han puesto de manifiesto que el ácido oleico controla el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Central en la rata. En efecto, el ácido oleico se sintetiza en los astrocitos, de donde es enviado a las neuronas como mensajero de la acción neurotrófica. De hecho, el ácido oleico no sólo es utilizado para la construcción de la membrana neuronal sino que actúa como agente neurotrófico, promoviendo el crecimiento de los axones y de las dendritas, la migración neuronal y la formación de las sinapsis. Estos cambios morfológicos se sustentan en la inducción de la síntesis de proteínas específicas del desarrollo neurítico, tales como la MAP 2 (“microtubule associated protein-2”), marcadora del desarrollo de las dendritas y de la GAP 43 (“growth associated protein 43”), marcadora del crecimiento axonal. Asimismo, el ácido oleico promueve la síntesis de señales de migración neuronal, tales como la

doblecortina, así como la de proteínas que participan en las sinapsis, tales como la PSD 95 y la sinaptotagmina.

El efecto del ácido oleico es sinérgico con el de las neurotrofinas NT-3 y NT-4/5, aunque no con el del NGF ni del BDNF, lo que sugiere que durante el periodo perinatal el ácido oleico se comporta como un agente neurotrófico específico. En este sentido, el efecto del ácido oleico es singular de este ácido graso, pues ni siquiera su isómero en trans, el ácido eláidico, es capaz de mimetizar sus efectos.

Asimismo, en nuestro laboratorio se ha identificado el mecanismo de transducción de la señal del ácido oleico en neuronas. En este sentido, el PPARalfa es el receptor nuclear del ácido oleico, puesto que su silenciamiento mediante RNA de interferencia (siRNA) suprime los efectos neurotróficos del ácido graso. Además, el ácido oleico induce la síntesis del factor de transcripción NeuroD2, que juega un papel esencial en las últimas etapas del desarrollo neuronal. Es más, la proteína quinasa C está implicada en el efecto del ácido oleico, puesto que la presencia de inhibidores específicos de la quinasa suprime los efectos neurotróficos del ácido graso.

El ácido oleico se sintetiza en los astrocitos bajo el estímulo de la albúmina sérica. En efecto, la albúmina es reconocida por la megalina, una proteína de la familia de los receptores de las lipoproteínas, siendo posteriormente endocitada por caveolas. Una vez en el interior del astrocito, la albúmina es conducida al retículo endoplasmático, donde activa al SREBP 1, un factor de transcripción que induce la esteril-CoA desaturasa, enzima clave de la síntesis de ácido oleico. En este sentido, el desarrollo postnatal del cerebro coincide con un aumento de la albúmina sérica en todas las especies, lo que se acompaña de la entrada específica de la albúmina en el cerebro durante este periodo. De hecho, inmediatamente tras el nacimiento se observa un

aumento significativo de la forma activa del SREBP 1, un factor de transcripción que induce la expresión de diversas enzimas del metabolismo lipídico. Entre ellas, la de la estearil-CoA desaturasa, enzima clave en la síntesis de ácido oleico, ya que cataliza la introducción del doble enlace característico de este ácido graso. El aumento de la expresión de la enzima se acompaña de la inducción de las proteínas marcadoras de crecimiento axonal y dendrítico GAP 43 y MAP 2, respectivamente. Estos resultados, realizados *in vivo*, han sido confirmados en cultivos organotípicos. En este sentido, hemos demostrado recientemente que tanto la albúmina como el ácido oleico, promueven el desarrollo del estriado, donde inducen el crecimiento y la fasciculación de los axones.

En resumen, todo parece indicar que la albúmina regula el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Central a través del aumento del ácido oleico, el cual actúa como factor neurotrófico del desarrollo neuronal. Por consiguiente, el aumento de las concentraciones de albúmina que tiene lugar inmediatamente tras el nacimiento es la señal para el desarrollo postnatal del Sistema Nervioso Central. Para ello, la albúmina promueve la síntesis de ácido oleico en los astrocitos, el cual difunde hacia las neuronas, en las que promueve el crecimiento dendrítico y axonal, así como la migración de las neuronas y la formación de sinapsis.

ENFERMEDAD DE ALZHEIMER

La enfermedad de Alzheimer es la más frecuente entre las enfermedades neurodegenerativas. Se caracteriza por la pérdida de neuronas y sus sinapsis, lo que resulta en un retraso cognitivo y una pérdida progresiva de la memoria, el lenguaje, el raciocinio y, finalmente, la muerte causada por complicaciones respiratorias. La aparición de la enfermedad de Alzheimer es gradual comenzando a los 60-70 años. Sin embargo, existe una variante de tipo genético cuyos síntomas aparecen precozmente, entre los 40 y 50 años.

Las dos manifestaciones patológicas más importantes de la enfermedad a nivel molecular son: la aparición de depósitos extracelulares de beta-amiloide en la corteza cerebral y la presencia intracelular de ovillos de la proteína tau hiperfosforilada. Ambos fenómenos son debidos a la insolubilización de estas proteínas como consecuencia de su plegamiento defectuoso, lo que las convierte en proteínas susceptibles de formación de filamentos insolubles. Sin embargo, el hecho más destacado del comienzo de la enfermedad consiste en la pérdida de las conexiones sinápticas, que precede a la producción de depósitos de beta-amiloide y a la formación de los ovillos de tau.

Existe una variante de claro componente genético producida por mutaciones en el gen de la presenilina-1 (cromosoma 14), en el de la presenilina-2, (cromosoma 1) y en el gen de la proteína precursora del beta-amiloide (APP; cromosoma 21), todas ellas de herencia autosómica dominante.

Estas variantes de la enfermedad, denominadas “familiares”, se caracterizan por la aparición precoz de los síntomas y corresponden a un bajo porcentaje de la prevalencia de la enfermedad.

Es necesario destacar que todos los pacientes con el síndrome de Down presentan un rápido desarrollo de la enfermedad de Alzheimer, lo que viene condicionado por el hecho de la localización del gen de la proteína precursora del beta-amiloide (APP) en la zona crítica de síndrome de Down (DSCR) del cromosoma 21, es decir, la zona duplicada en esta trisomía, como consecuencia de una disyunción defectuosa (véase más adelante).

Es importante destacar que se ha detectado una clara asociación de la enfermedad de Alzheimer con la hiperlipoproteinemia tipo III, especialmente la ligada a la forma E4 de la apoproteína E, posiblemente debido a una mutación del promotor de su gen, lo que conduce a la sobreexpresión de la apoproteína. Desde el descubrimiento de esta asociación se ha conjeturado sobre el papel de la apoproteína E en el metabolismo lipídico del cerebro. Sin embargo, está aún pendiente de dilucidar si el exceso de apo E4 produce alguna alteración del metabolismo del colesterol en el cerebro, favorece la entrada del virus supuestamente desencadenante de la enfermedad o, paradójicamente, se trata de una mutación del gen de la apoproteína E, que muestra la alteración de un gen flanqueante, el del TOM. Este último codifica una proteína componente del sistema mitocondrial de importación de proteínas, que parece implicado en el efecto neurotóxico del beta-amiloide. Este poro es, posiblemente, la vía de entrada del beta-amiloide en la mitocondria, lo que induciría la producción de radicales libres y el desencadenamiento de la enfermedad.

Existen otros genes que confieren susceptibilidad para la enfermedad de Alzheimer, aparte de los ya mencionados. Así, el gen de la alfa₂-macroglobulina, el de una subunidad de la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa, el de la variante K de la butiril-colinesterasa y algunos otros genes mitocondriales.

Desde el punto de vista bioquímico, los fenómenos más importantes que tienen lugar en la enfermedad de Alzheimer son la síntesis y deposición del beta-amiloide y la hiperfosforilación de la proteína tau. Ambos fenómenos producen efectos deletéreos en el Sistema Nervioso Central, por lo que, sin duda, son los responsables del deterioro mental característico de la enfermedad. Asimismo, es posible que ambos mecanismos estén relacionados entre sí, aunque la conexión entre ellos sea aún oscura y con pocos fundamentos bioquímicos.

A continuación revisaremos brevemente ambos mecanismos, ciñéndonos estrictamente a aquellos hechos que parecen más probados y de más sólida argumentación.

Vía del beta-amiloide

La proteína precursora del beta-amiloide (APP), como su nombre indica, es la fuente de beta-amiloide, aunque su procesamiento normal produce un péptido inocuo, el alfa-amiloide soluble (sAPPalfa) en modo alguno relacionado con la enfermedad. De hecho, el papel fisiológico del alfa amiloide ha sido motivo de fuerte controversia, aunque recientemente se ha descrito que la producción de alfa-amiloide y, subsecuentemente, la del beta-amiloide está condicionado a la respuesta antiinfecciosa del Sistema Nervioso Central. En este sentido, la síntesis de beta-amiloide podría ser la respuesta exacerbada a una súbita proliferación vírica. De ser así, la

producción de beta-amiloide sería una respuesta normal al estrés celular producido por la invasión de un virus, posiblemente endógeno.

En efecto, el procesamiento normal de la proteína precursora de beta-amiloide conduce a la síntesis de alfa-amiloide (sAPPalfa) por efecto de la alfa-secretasa. De hecho, el procesamiento normal implica alfa-secretasas y dos metaloproteasas, la ADAM 10 y la ADAM 17/TACE. Por acción de estas enzimas se produce un fragmento soluble, el alfa-APP, que se libera al exterior de la célula y un pequeño fragmento, el C83.

La beta-secretasa, también llamada BACE (“beta-site APP cleaving enzyme”) libera un péptido llamado sAPPbeta, ligeramente menor que el alfa del mismo nombre, y el extremo C-terminal, el C99. Este último es posteriormente hidrolizado por la gamma-secretasa para dar un péptido de 38 a 43 residuos, denominado beta-amiloide, junto con el dominio extracelular de la APP (AICD). Si el péptido resultante es el denominado beta-amiloide 42, el plegamiento es anormal y el péptido polimeriza para producir agregados insolubles.

La gamma-secretasa es un complejo multienzimático formado por la presenilina 1 y otras tres proteínas, la nicastrina, la Aph-1 (“anterior pharynx defective-1”) y la Pen2 (“presenilina enhancer-2”). La presenilina forma parte del sistema de señalización Notch, el cual tiene un papel muy destacado en la neurogénesis como vía de señalización de la señal anti-neurogénica. De hecho, una sobreexpresión del gen neurogénico *Mash* (“mammalian achaete-scute homolog”) provoca la liberación de la proteína delta que interacciona con los receptores Notch de las células adyacentes impidiendo su conversión en neuronas (véase anteriormente).

La LPR (“lipoprotein receptor-related protein”) también parece participar en la función de la secretasas, aunque su

papel no está totalmente esclarecido. De hecho, esta proteína es el receptor de la apoproteína E, por lo que juega un papel esencial en el transporte de colesterol al cerebro. Sin embargo, recientemente se le ha implicado en el transporte de beta-amiloide en dirección al líquido cefalorraquídeo, por lo que su importancia en la enfermedad de Alzheimer ha tomado un nuevo giro. En efecto, la LRP parece implicada en la liberación del beta-amiloide a través de la barrera hematoencefálica, lo que parece constituir la vía de eliminación del péptido a través de la sangre. La transferencia del beta-amiloide se lleva a cabo por unión del beta-amiloide con la apoproteína E o con la alfa2-macroglobulina. Posteriormente, ambos complejos se unen al receptor LRP a través de los sitios de unión de la apoproteína E o de la alfa2-macroglobulina. Por último, la eliminación del péptido se lleva a cabo por las enzimas, zinc-metaloendopeptidasa, IDE (“insulin degrading enzyme”) y la neprilisina.

Esta parece la vía de eliminación del beta-amiloide, es decir, primero, el paso a través de la barrera hematoencefálica gracias al LRP y, después, una vez en la sangre, su degradación en el hígado mediante las proteasas antes mencionadas.

Hiperfosforilación de la proteína tau

La formación de ovillos compuestos por la proteína tau hiperfosforilada es otra de las características fundamentales de la enfermedad de Alzheimer. La tau es una proteína cuya función principal es la de promover el ensamblaje y estabilización de los microtúbulos, componentes fundamentales del citoesqueleto. Existen seis tipos de tau, los cuales se generan por ajuste (“splicing”) alternativo de un solo gen. De la proporción de cada uno de ellos, así como de su estado de

fosforilación, depende la actividad de la proteína. De hecho, la fosforilación de la tau es esencial para su función, aunque una fosforilación excesiva, como la que tiene lugar en la enfermedad de Alzheimer, parece dañar seriamente la funcionalidad de la proteína. La fosforilación de la tau se lleva a cabo catalizada por diversas kinasas, tales como la glucógeno sintasa kinasa 3 (GSK3 beta) y la kinasa dependiente de ciclina 5 (cdk-5).

La serie de señales que conducen a la hiperfosforilación de la tau en la enfermedad de Alzheimer no está completamente identificada. Todo parece indicar que el acúmulo de beta-amiloide conduce a una serie de acontecimientos que activan la vía de la Akt/GSK3beta, lo que conduce a la hiperfosforilación de la tau. En este sentido, la proteína hiperfosforilada pierde su afinidad por la tubulina, lo que provoca la desestabilización de los microtúbulos. Este hecho conduce a la disrupción del citoesqueleto, a la formación de los ovillos y a la muerte celular.

Mecanismos de la muerte neuronal en la enfermedad de Alzheimer

Aunque la formación de fibrillas de beta-amiloide puede producir efectos neurotóxicos *per se*, la tendencia actual es la de culpar a las formas monoméricas u oligoméricas del beta-amiloide de los efectos deletéreos de la enfermedad de Alzheimer. En efecto, hoy se considera a la forma beta-amiloide 42 como la principal especie tóxica. Asimismo, parece existir un consenso acerca del inicio de la enfermedad, que tomaría carta de naturaleza cuando la producción de beta-amiloide sobrepasara las capacidades celulares para su degradación. Entonces el beta-amiloide entraría en la neurona,

iniciándose la denominada “vía intracelular”. De hecho, parece claro que el beta-amiloide tiene que entrar en la neurona, pues resultados procedentes de nuestro laboratorio indican que la albúmina sérica inhibe los efectos neurotóxicos del beta-amiloide porque impide su entrada en el interior neuronal. Así, nuestros resultados demuestran que la albúmina impide la entrada del beta-amiloide en la célula y que, en estas circunstancias, se suprimen los efectos del beta-amiloide sobre la producción de especies reactivas de oxígeno, así como sobre la muerte neuronal.

Una vez en el interior de la neurona el beta-amiloide interfiere con el metabolismo celular, posiblemente a varios niveles. Sin embargo, el más importante de sus efectos tiene lugar en la mitocondria, donde penetra a través del sistema mitocondrial de importación de proteínas, denominado complejo TIM/TOM. En este sentido se ha conjeturado que el exceso de beta-amiloide o de su proteína precursora APP, produce una obstrucción del TOM, lo que conduce a la disfunción mitocondrial y, finalmente, a la muerte celular. En efecto, la inhibición del sistema de importación de proteínas resultaría en un déficit de los componentes de la cadena respiratoria, la mayoría de origen citoplasmático, con el resultado inmediato de la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno. De hecho, en pacientes con la enfermedad de Alzheimer se ha detectado un déficit de algunas subunidades de la citocromo oxidasa, lo que sin duda aumentará considerablemente la producción de especies reactivas de oxígeno. Asimismo, en modelos experimentales de la enfermedad de Alzheimer se ha observado que la presencia de beta-amiloide produce la fragmentación de la mitocondria, posiblemente, como consecuencia de la inducción de los mecanismos de fisión mitocondrial inducida por las especies reactivas de oxígeno. Los mecanismos de fusión, elongación

y fisión mitocondriales son críticos en la dinámica de la mitocondria en el Sistema Nervioso, puesto que en la neurona las mitocondrias deben moverse con objeto de suplir a los extremos axónicos y dendríticos con la energía necesaria para la transmisión sináptica. Pues bien, estos fenómenos están entorpecidos en la enfermedad de Alzheimer, principalmente el de la fusión y elongación, que son los responsables de la distribución de las mitocondrias en los alrededores de las sinapsis y, consecuentemente, de la logística energética neuronal. Así, en los cerebros de pacientes con la enfermedad de Alzheimer se detecta una clara fragmentación de la mitocondria, así como un descenso del potencial de membrana. Es necesario resaltar que en la actualidad se acepta que la enfermedad comienza con la pérdida de la transmisión sináptica, posiblemente como consecuencia de la disminución de la actividad mitocondrial. De ser así, la pérdida de la función mitocondrial consecuencia de la entrada del beta-amiloide en la mitocondria de la neurona puede ser el inicio de la cadena de sucesos metabólicos que conducen a la neurodegeneración en la enfermedad de Alzheimer.

Otro punto de interferencia del beta-amiloide con la función mitocondrial tiene lugar a través del poro de transición. Aunque no conocemos el papel fisiológico del poro de transición mitocondrial, sabemos que su apertura produce la liberación de citocromo c y el inicio de la apoptosis. Así, se ha descrito que el beta-amiloide interacciona con la ciclofilina D, uno de los componentes del poro de transición cuya translocación al interior de la mitocondria inicia la apertura del poro. De hecho, los animales transgénicos que no contienen ciclofilina D presentan una menor susceptibilidad al beta-amiloide, de tal manera que muestran una clara resistencia a la neurodegeneración producida por la sobreexpresión de la proteína precursora de beta-amiloide.

Los estudios sobre el efecto del beta-amiloide sobre la maquinaria de obtención de energía mitocondrial indican que el beta-amiloide puede interferir en los procesos mitocondriales a diversos niveles. En este sentido, se ha descrito una disminución de la actividad de la piruvato deshidrogenasa y de la alfa-cetoglutarato deshidrogenasa en cerebro de enfermos de Alzheimer. Sin embargo, la enzima que ha merecido más atención es la ABAD (“amyloid-beta-binding alcohol dehydrogenase”), pues, como su nombre indica, el beta-amiloide tiene una gran afinidad por ella, formando un complejo que impide a la enzima la interacción con su coenzima, el NAD. El resultado es la producción de especies reactivas de oxígeno, al no encontrar los electrones el aceptor adecuado. De hecho, esta enzima está activada en el cerebro de enfermos con Alzheimer, así como en ratones transgénicos que sobrepresan APP. Por otro lado, aunque el verdadero significado fisiológico de esta enzima no está claramente determinado, se piensa que interviene en la utilización de cuerpos cetónicos que, como se sabe, son unos sustratos muy importantes en el metabolismo energético del Sistema Nervioso Central. Muy recientemente se ha identificado a la ABAD como la 17beta-hidroxiesteroide deshidrogenasa, lo que vincula al estrés con la enfermedad de Alzheimer a través de los glucocorticoides. En efecto, el tratamiento con glucocorticoides a ratones transgénicos que sobrepresan APP aumenta la producción de especies reactivas de oxígeno y el consiguiente deterioro mitocondrial.

Sin duda, el efecto más importante del beta-amiloide en mitocondria es la inhibición de la cadena respiratoria, ya que este fenómeno es directamente responsable de la producción de especies reactivas de oxígeno. Todo parece indicar que la interacción del beta-amiloide con la citocromo c oxidasa, es decir, el complejo IV de la cadena respiratoria, produce una

limitación del flujo de electrones, lo que conduce a la producción de especies reactivas de oxígeno. En efecto, el aceptor final de los electrones en la cadena respiratoria es el oxígeno que se reduce para sintetizar agua. Sin embargo, los electrones tienen que tener un flujo sincronizado, de tal manera que alcancen por parejas el núcleo de la citocromo c oxidasa que soporta el oxígeno. De otra forma, si llegan en número impar, se producen especies reactivas de oxígeno que, como se sabe, se caracterizan por poseer electrones desapareados.

Es necesario mencionar que la producción de especies reactivas de oxígeno tiene lugar de una manera habitual durante el funcionamiento normal de la mitocondria. Así, en la cadena respiratoria, a nivel del coenzima Q, se produce accidentalmente un radical libre de oxígeno denominado superóxido, es decir, el oxígeno con un electrón desapareado. Este superóxido es muy reactivo, aunque en medio acuoso reacciona consigo mismo formando agua oxigenada, la cual no es reactiva *per se*. Por el contrario, en presencia de Fe^{2+} tiene lugar la denominada reacción de Fenton, en la que se produce el radical de oxígeno más reactivo, es decir, el radical hidroxilo. Asimismo, los radicales libres son autocatalíticos, puesto que provocan una reacción en cadena generando nuevos radicales libres.

Para defenderse de los radicales libres la neurona dispone de una serie de enzimas destinadas a la inactivación de tales radicales. En este sentido, la superóxido dismutasa (SOD) cataliza la síntesis de agua oxigenada a partir de superóxido, con objeto de disminuir la vida media de éste, mientras que la glutatión peroxidasa cataliza la transformación del agua oxigenada en agua y oxígeno. De esta manera se suprimen rápidamente los radicales libres producidos en la cadena respiratoria. Asimismo, la glutatión peroxidasa lleva a cabo la

recuperación de los lipoperóxidos mediante su reducción a hidroxíácidos. Esta enzima utiliza glutatión reducido (GSH) que se oxida a glutatión oxidado (GS-SG) que, para ser recuperado, utiliza NADPH procedente del ciclo de las pentosas fosfato. Este último paso está catalizado por la glutatión reductasa. Este sistema permite recuperar, en la mayoría de los casos, los productos oxidados por los radicales libres. No obstante, para defenderse de ellos nuestro organismo dispone de diversos antioxidantes que captan los radicales libres. El único de carácter endógeno es el ácido úrico, procedente de la degradación de las bases púricas, mientras que con la dieta adquirimos los restantes, es decir, la vitaminas C y E, así como los beta-carotenos. En el caso concreto de la neurona, ésta se defiende acumulando vitamina C en cantidades elevadas.

Con el nombre de estrés oxidativo se conoce el estado celular en el que existe un exceso de producción de radicales libres o un defecto en los sistemas de eliminación de los productos oxidados. Un tejido especialmente sensible al estrés oxidativo es el tejido nervioso, dado que en él se sintetiza también óxido nítrico, que produce peroxinitrito, un radical libre fuertemente oxidante. De hecho, las especies reactivas de oxígeno son fuertemente oxidantes, provocando la inactivación de numerosas enzimas y la deformación de las estructuras lipídicas por la formación de lipoperóxidos.

Una de las estructuras mitocondriales más sensibles a las especies reactivas de oxígeno es el DNA mitocondrial, que al carecer de histonas está muy desprotegido. De hecho, se han descrito numerosas mutaciones en el DNA mitocondrial atribuibles a la enfermedad de Alzheimer. Dichas mutaciones pueden ser críticas para el funcionamiento mitocondrial, puesto que, aunque el DNA mitocondrial codifica un número muy limitado de proteínas, éstas son esenciales para la cadena respiratoria y la fosforilación oxidativa.

Otro efecto indeseable de las especies reactivas de oxígeno es su posible efecto inhibitorio de la proteasa presecuencia (Prep), enzima encargada de la degradación del beta-amiloide en la matriz mitocondrial. Esta enzima posee dos cisteínas susceptibles de formar un puente disulfuro intracatenal en condiciones de estrés oxidativo, lo que la convierte en una forma inactiva. Por consiguiente, el estrés oxidativo provocado por el beta-amiloide inhibe a su vez su propia degradación, por lo que el proceso se autoalimenta peligrosamente.

Tradicionalmente se han enunciado dos hipótesis para explicar el daño neuronal observado en la enfermedad de Alzheimer. La denominada “hipótesis de la cascada del beta-amiloide”, culpa al defectuoso procesamiento de la APP y al subsiguiente acúmulo de beta-amiloide del progreso de la enfermedad, tal como hemos descrito previamente. Sin embargo, la formación de ovillos de tau hiperfosforilada, característica de la enfermedad de Alzheimer, hizo proponer la “hipótesis de la degeneración del citoesqueleto neuronal”, que propone que es la desorganización del citoesqueleto causado por la hiperfosforilación de la tau, el origen de los efectos que conducen a la neurodegeneración. Recientemente se ha querido conciliar ambas hipótesis bajo el paraguas de la “pérdida de plasticidad neuronal” como origen y resultado de la neurodegeneración. De hecho, las dos hipótesis iniciales no son esencialmente contradictorias, si bien era necesario establecer el orden en que las causas y los efectos deberían situarse. El conflicto radica en establecer si la enfermedad comienza con el acúmulo de beta-amiloide o esto último es consecuencia del desensamblaje del citoesqueleto, provocado por la hiperfosforilación de la tau.

Sin querer entrar en controversia, podemos afirmar que la producción de especies reactivas de oxígeno provocada por el aumento de la concentración de beta-amiloide induce la

fosforilación de la tau. De alguna manera, las primeras moléculas de tau oxidadas por las especies reactivas de oxígeno activarían la Akt (también llamada proteína quinasa B; PKB) y la GSK3beta, dos kinasas que fosforilarían al resto de las moléculas de tau, ayudadas por las kinasas dependientes de ciclina, principalmente la cdk5. Asimismo, se ha descrito que otras kinasas, la PKC y la ERK2, se activan por las especies reactivas de oxígeno y que su activación colabora a la hiperfosforilación de la tau.

Como hemos mencionado anteriormente, la fosforilación de la tau es un proceso necesario para el ensamblaje de los microtúbulos, pero la fosforilación excesiva genera el proceso contrario, al desprenderse la tau de la tubulina con la consiguiente desestructuración de los microtúbulos. Estos polimerizarían de forma aberrante mientras que la tau formaría los ovillos característicos de la enfermedad de Alzheimer. Junto con la desestructuración del citoesqueleto, el citoplasma celular se llenaría de estructuras inservibles que ocuparían el espacio destinado a los orgánulos celulares, provocando la muerte de la neurona.

Hipótesis unificada de la neurodegeneración en la enfermedad de Alzheimer

A la vista de lo anteriormente expuesto, resulta difícil enunciar una hipótesis que concilie todos los mecanismos descritos para explicar la neurodegeneración observada en la enfermedad de Alzheimer. Sin embargo, puede adelantarse, en sus líneas generales, una cadena de acontecimientos bioquímicos que una las causas con los efectos finales de la enfermedad y que no son otros, estos últimos, que la desorganización

de las estructuras neuronales y la consiguiente muerte de la neurona.

Podemos aceptar como comienzo del proceso el aumento de la producción de beta-amiloide, producido por el despertar de un virus en letargo durante mucho tiempo. La sobreproducción de beta-amiloide sobrepasa la capacidad cerebral de excreción del péptido a través de la barrera hematoencefálica, acumulándose en el exterior de las neuronas. Entonces, el beta-amiloide es internalizado y se dirige a las mitocondrias donde penetra por el transportador de proteínas TIM/TOM. El exceso de beta-amiloide produce la obstrucción del transportador, lo que impide la entrada de proteínas claves para la función mitocondrial. Una vez en el interior mitocondrial, el beta-amiloide interfiere con diversas enzimas e inhibe la cadena respiratoria. La disfunción de esta última produce una extraordinaria cantidad de especies reactivas de oxígeno, que oxidan las estructuras mitocondriales, incluido el principal sistema mitocondrial de degradación del beta-amiloide, es decir, la proteasa presecuencia (Prep).

Las especies reactivas de oxígeno oxidan también otras estructuras celulares, incluidas el citoesqueleto y en él una proteína clave en su ensamblaje, la tau. Se ha sugerido que las primeras moléculas oxidadas de tau inducen las quinasas encargadas de su fosforilación y aunque la fosforilación de la tau es un proceso clave para su integración en el citoesqueleto, su hiperfosforilación la desprende del citoesqueleto, provocando su desensamblaje.

Finalmente, el “estrés estérico” provocado por los ovillos formados por la tau hiperfosforilada, sumado a la activación del poro de transición mitocondrial producida por el beta-amiloide, así como el conjunto de otras estructuras celulares afectadas por las especies reactivas de oxígeno, promueven la

muerte neuronal por apoptosis. Sin embargo, las primeras estructuras mitocondriales dañadas son las sinapsis, dada su estricta dependencia de la energía mitocondrial, lo que finalmente resulta en el colapso de las conexiones interneurona-les. Entre ellas, las sinapsis que soportan la “long term potentiation”, responsables de la memoria. Por último, la muerte neuronal provoca la reacción de los astrocitos y de la microglía, con el resultado final de la degeneración del tejido.

Tratamiento

Dado que los síntomas de la enfermedad de Alzheimer se deben principalmente a la pérdida de las conexiones colinérgicas, el tratamiento paliativo se ha centrado en agentes inhibidores de la acetilcolinesterasa. Estos fármacos producen un efecto modesto, pero suficiente para detener el retraso cognitivo. Asimismo, los antagonistas de los receptores NMDA de glutamato también se han utilizado en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer, con resultados variables. Por otro lado, se han realizado numerosos ensayos clínicos, de los que destacan el tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos, estatinas, estrógenos, ginkgo biloba, antioxidantes, vitaminas (E y C), factores neurotróficos, etc.

Los tratamientos, diseñados teniendo en cuenta las bases moleculares de la enfermedad, tratan de evitar la sobreproducción de beta-amiloide mediante inhibidores de la beta y gamma secretasas o mediante RNA antisentido de la proteína precursora del beta-amiloide. Otros tratan de prevenir la producción de los ovillos de tau hiperfosforilada. En este sentido, se intenta impedir la fosforilación de la tau con fármacos tales como los inhibidores de la cdk5, de la MAP

kinasa, activadores de la proteína fosfatasa 2A, de la catepsina, etc.

Sin embargo, los tratamientos más esperanzadores se han centrado en la eliminación del beta-amiloide. En este sentido, los primeros ensayos con una vacuna contra el beta-amiloide han dado resultados esperanzadores, aunque algunas han sido retiradas, puesto que producen encefalopatías.

En nuestro laboratorio hemos demostrado que la albúmina sérica impide la entrada del beta-amiloide en las neuronas suprimiendo los efectos deletéreos del péptido. Así, la presencia de albúmina inhibe la producción de especies reactivas de oxígeno inducida por el beta-amiloide, lo que se traduce en un aumento muy importante de la capacidad de supervivencia de las neuronas. El efecto de la albúmina tiene lugar gracias a la interacción molécula a molécula entre el beta-amiloide y la albúmina, de tal manera que forman un heterodímero incapaz de atravesar la membrana plasmática de la neurona. En este mismo sentido, un grupo de investigadores del Instituto Grifols de Barcelona ha utilizado la albúmina humana Grifols para drenar el beta-amiloide del líquido cefalorraquídeo de individuos afectados con la enfermedad de Alzheimer. Así, los enfermos han sido tratados mediante repetidas plasmaféresis con albúmina humana Grifols, con objeto de movilizar el beta-amiloide del líquido cefalorraquídeo. De hecho, el beta amiloide está unido a la albúmina plasmática, por lo que su reemplazo por una albúmina humana Grifols nueva promueve la extracción del péptido del líquido cefalorraquídeo y, subsecuentemente, del cerebro. Los resultados son prometedores, puesto que el tratamiento decrece la concentración de los péptidos 40 y 42 en el líquido cefalorraquídeo, a la vez que se observa un aumento moderado del MMSE (“Mimi-Mental Status Examination”), mientras que ADAS-Cog (“Alzheimer’s Disease

Assesment Scale, cognitive subscale”) disminuye ligeramente (lo que es positivo). En resumen, aprovechando la afinidad de la albúmina por el beta-amiloide la plasmaféresis elimina el péptido de la sangre, lo que se traduce en una ligera disminución en el avance del deterioro cognitivo de estos enfermos.

SÍNDROME DE DOWN

El síndrome de Down se debe a la presencia de un cromosoma 21 supernumerario (trisomía) debido, en la mayoría de los casos, a un error en la disyunción de la meiosis I materna. La incidencia de la disyunción defectuosa aumenta con la edad de la madre (>38 años), estimándose que, a partir de los 40 años, la mayoría de los ovocitos son aneuploides. Sorprendentemente, la meiosis I comienza en la madre durante su propia fase embrionaria, quedando detenida en el estado diploteno de la profase I hasta la pubertad. En el estado diploteno ya se ha finalizado la recombinación pero aún no se ha llevado a cabo la disyunción. De hecho, ésta tiene lugar en la anafase, es decir, una vez finalizadas la profase y la metafase. Podría pensarse, pues, que los ovocitos aneuploides madurasen tardíamente, es decir, en la etapa premenopáusica. Sea como fuere, en la meiosis I la disyunción se lleva a cabo por los quiasmas, por lo que debe tratarse de un entrecruzamiento defectuoso ocurrido durante la recombinación, que impide la rotura del quiasma durante la anafase, arrastrándose un cromosoma extra a una de las células hijas. Algunos casos de síndrome de Down pueden deberse a una translocación robertsoniana o a la presencia de mosaïcismo (47,+21/46), a lo que posiblemente se debe el amplio margen de afectación que se observa en estos enfermos.

El cromosoma 21 es el más pequeño de los autosómicos, conteniendo aproximadamente 51 millones de pares de bases. Se trata de un cromosoma acrocéntrico con un brazo

muy corto y otro largo. En este último radica la DSCR (“Down Syndrome Critical Region”) que contiene 5 millones de pares de bases. Sin embargo, el brazo corto puede ser también muy importante en el síndrome de Down, porque en su zona cercana al centrómero presenta las llamadas familias 724 que, aunque comunes con otros cromosomas, pueden ser responsables de la disyunción defectuosa. De hecho, la zona adjunta a estas familias en dirección al telómero, la denominada NOR (“nuclear organizer region”), está duplicada en los padres de niños con síndrome de Down, aunque este hecho es aún motivo de fuerte controversia, dado que la disyunción no se lleva a cabo por el centrómero en la meiosis I sino, como hemos mencionado, por los quiasmas.

La DSCR está situada en el brazo largo, en las bandas q 21 y q 22, y contiene entre 50 y 100 genes. De los genes existentes en esta zona se conocen muchos, aunque la secuencia de la mayoría carece aún de significado, puesto que desconocemos las proteínas que codifican. De los genes existentes en la DSCR han merecido un interés especial el de la superóxido dismutasa 1 (SOD 1) y el de la proteína S100B, dada su estrecha relación con el síndrome de Down. Así, la superóxido dismutasa 1 tiene un papel muy importante en el metabolismo de las especies reactivas de oxígeno y la S100B es un factor de crecimiento de las células gliales.

La proteína S100B es una proteína de bajo peso molecular que se activa por Ca^{2+} , por el que tiene una gran afinidad. Está localizada en astrocitos, aunque también ha sido detectada en los oligodendrocitos e, incluso, en algunas neuronas. Activa la guanilato ciclasa a través de la producción de óxido nítrico. Como se sabe, el óxido nítrico es un neurotransmisor que lleva a cabo su función a través de la activación directa de la guanilato ciclasa, la cual cataliza la síntesis de GMP cíclico (cGMP). Sea cual fuere su mecanismo de

acción, la S100B actúa como un factor neurotrófico que aumenta la viabilidad neuronal. Sin embargo, su sobreexpresión produce la muerte neuronal por apoptosis. Por consiguiente, se pensó que la sobreexpresión de la S100B sería la responsable del deterioro cognitivo de la enfermedad al producir la muerte neuronal durante etapas críticas del desarrollo cerebral. Los primeros análisis sobre las concentraciones de S100B en cerebro de niños con síndrome de Down parecían dar soporte a esta hipótesis, pues se observó un extraordinario aumento de la concentración cerebral de S100B durante los primeros 18 meses después del nacimiento. Sin embargo, cuando pudieron llevarse a cabo análisis similares en cerebro de niños que no padecían la enfermedad, se observó que el aumento de la S100B era consecuencia del desarrollo postnatal del cerebro y, por consiguiente, tenía lugar también en circunstancias normales. En resumen, la S100B es importantísima para el desarrollo del sistema nervioso, pero no existe sobreexpresión de la proteína en los niños con el síndrome de Down durante la etapa postnatal.

Sin embargo, durante la vida adulta la sobreexpresión de S100B puede causar la neurodegeneración observada en el síndrome de Down. En este sentido, es bien sabido que muchos de los enfermos con el síndrome de Down padecen durante la vida adulta una degeneración neuronal muy parecida a la observada en la enfermedad de Alzheimer. En efecto, la sola sobreexpresión de la S100B podría explicar, por sí misma, la neurodegeneración tardía observada en el síndrome de Down. Este hecho viene corroborado por el descubrimiento de que el beta-amiloide induce la síntesis de la S100B, lo que unificaría el mecanismo de neurodegeneración en ambas enfermedades. Asimismo, es muy importante destacar que el gen de la proteína precursora de beta-amiloide (APP) está en la región crítica del cromosoma 21, por lo que

también la APP y, subsecuentemente, el beta-amiloide, pueden estar aumentados en el síndrome de Down.

Por otro lado, se conoce que la interacción de la S100B con la proteína tau provocaría la activación de ésta última. En estas circunstancias la proteína tau se une a la proteína Map 2 de los microtúbulos, provocando el ensamblaje de estos últimos y el estrellado (“stellation”) de los astrocitos, es decir, la prolongación en todos los sentidos de sus procesos, lo que les da un claro aspecto estrellado. Asimismo, la S100B inhibe la fosforilación de la GAP 43 (“growth associated protein 43”), puesto que es un efector negativo de la proteína quinasa C. Como se sabe, la GAP 43 cumple una función esencial en la generación y progreso de los axones, de tal manera que su fosforilación inhibe la axonogénesis. Dado que la S100B, a la vez que provoca el “estrellamiento” de los astrocitos inhibe la fosforilación de la GAP 43, esto resulta en el crecimiento de los axones y, subsecuentemente, de las conexiones interneuronales. Por consiguiente, la S100B promueve el desarrollo perinatal del Sistema Nervioso, promoviendo el crecimiento axonal a la vez que controla el citoesqueleto de los astrocitos. Sin embargo, la expresión de esta proteína es transitoria, ciñéndose a la ventana temporal que rodea al nacimiento. Si su expresión tuviese lugar durante la edad adulta, se inducirían una serie de cambios en las neuronas y astrocitos que, inevitablemente, conduciría a la neurodegeneración.

La superóxido dismutasa 1 (SOD 1) también está codificada en la DSCR, por lo que se la ha implicado en la etiopatogenia molecular del síndrome de Down. De hecho, un aumento de la actividad de esta enzima podría generar tal cantidad de agua oxigenada que superase la capacidad de la glutatión peroxidasa para catalizar su transformación en agua y oxígeno. En estas circunstancias podría generarse, por la

reacción de Fenton, radical hidroxilo, el más potente de los radicales libres. Sin embargo, los enfermos con el síndrome de Down no presentan cambios en la actividad de la SOD 1 con respecto a los individuos sanos de la misma edad.

En resumen, los efectos deletéreos supuestamente causados por la sobreexpresión de la S100B y de la SOD 1 pueden influir exclusivamente a largo plazo, contribuyendo a la neurodegeneración tipo Alzheimer presente en el adulto con síndrome de Down pero, posiblemente, no al desarrollo temprano de la enfermedad.

Otros genes de la “región crítica” del cromosoma 21 merecen una atención especial. Este es el caso del *DYRK* (“dual-specificity tyrosine phosphorylation-regulated kinase”, también denominado “minibrain”), el cual se considera responsable del retraso mental al inducir la hiperfosforilación de proteínas clave en la neurogénesis y como posible agente inductor de la formación de ovillos de tau hiperfosforilada, una característica de la enfermedad de Alzheimer que también se observa en los enfermos con el síndrome de Down (véase anteriormente). Este fenómeno está acentuado por la sobreexpresión del *DSCRI* (“DS critical region-1”), otro gen de la “región crítica” del cromosoma 21, el cual codifica la calcipresina 1, un inhibidor de la fosfatasa que desfosforila los sustratos de la kinasa DYRK. Por consiguiente, la sobreexpresión conjunta de ambos genes crea un estado extremo de hiperfosforilación, ya que la kinasa está permanentemente activada y la fosfatasa inhibida por la calcipresina. Otros genes de la “región crítica” que pueden ser importantes en el retraso mental son el *NCAR* (“neural cell adhesion molecule”) y el *DSCAM* (“DS cell adhesion molecule”) que codifican proteínas de adhesión celular, importantísimas en el reconocimiento intercelular, un fenómeno clave en el desarrollo del Sistema Nervioso Central (véase anteriormente).

Otros genes situados en la DSCR, que pueden tener relación con la patología del síndrome, son el *IFNAR*, un receptor del interferón al que se le hace responsable de los defectos inmunológicos de estos enfermos, el *COL6A1* (“collagen type I alfa 1”), posiblemente relacionado con la cardiopatía congénita de estos enfermos, el *ETS2*, al que se hace responsable del fenotipo mongólico del síndrome y el *CRYA1* (“crystallin alfa-A”), que codifica una proteína constituyente del cristalino y cuya sobreexpresión puede ser la causante de la proclividad a las cataratas propia de estos enfermos.

El descubrimiento del síndrome de Down se llevó a cabo al intentar clasificar enfermos con retraso mental. Por consiguiente, es bien conocido que la trisomía 21 afecta al desarrollo del Sistema Nervioso Central, aunque el grado de afectación varía extraordinariamente de un individuo a otro. Aunque la medición del coeficiente intelectual en recién nacidos es cuestionable, los datos de Morgan demuestran claramente que el coeficiente intelectual de los recién nacidos con síndrome de Down es normal en el momento del nacimiento, pero decrece drásticamente durante los primeros cuatro años de vida y se ralentiza durante los cuatro siguientes, para continuar decreciendo a partir de los 8 años de vida. Por consiguiente, se puede afirmar que los efectos deletéreos de la enfermedad sobre el Sistema Nervioso Central tienen lugar durante el período postnatal. De hecho, se ha propuesto que el síndrome tiene un carácter neoténico, es decir, que se debe a la persistencia de rasgos fetales durante la vida extrauterina. En este sentido, el niño con síndrome de Down parece haber obviado el desarrollo postnatal del cerebro, tan importante en la especie humana. Paradójicamente, las extraordinarias cualidades de la mente humana parecen tener, asimismo, un origen neoténico, aunque en este último caso, el salto neoténico esté condicionado por el tamaño del feto y no provocado

por la sobreexpresión anormal de genes clave para el desarrollo del Sistema Nervioso Central (véase “Origen neoténico de la mente” Discurso de ingreso en la Real Academia de Doctores de España J.M^aMedina, 2002).

Durante el período perinatal tiene lugar una importante etapa en el desarrollo del Sistema Nervioso Central de la especie humana. De hecho, en los alrededores del parto tiene lugar la definitiva configuración del córtex y del estriado, gracias a la plasticidad “residual” de las zonas que tapizan el interior de los ventrículos laterales. Este proceso es crucial para la obtención de un cerebro maduro y eficaz y quizás sea la clave para entender la superioridad cognitiva de nuestra especie. Pues bien, resultados procedentes de nuestro laboratorio (véase anteriormente) indican que el desarrollo perinatal del cerebro está dirigido por la albúmina sérica, que controla el desarrollo neuronal a través del factor neurotrófico ácido oleico. Como hemos podido demostrar, el silenciamiento temporal de la megalina, proteína esencial en el transporte de la albúmina al interior del cerebro, suprime el desarrollo del estriado. Por consiguiente, la presencia de la albúmina en la sangre parece crucial para el correcto desarrollo de nuestro Sistema Nervioso. En este sentido, los enfermos con el síndrome de Down poseen menores concentraciones de albúmina en sangre, lo que podría explicar un menor grado de desarrollo mental durante el periodo perinatal, coincidiendo con la caída del coeficiente intelectual antes mencionado.

Como hemos comentado anteriormente, el control de la albúmina sobre el desarrollo perinatal del cerebro se ejerce a través del ácido oleico, que actúa como factor neurotrófico, promoviendo el crecimiento de axones y dendritas, la migración neuronal, así como la formación de sinapsis. Por consiguiente, un déficit de la albúmina durante este crítico periodo del desarrollo del Sistema Nervioso podría explicar el retraso mental

del síndrome de Down. De hecho, el cerebro de estos enfermos muestra una clara deficiencia en la síntesis de ácido oleico, dado que sus fosfolípidos, especialmente la esfingomielina, tienen un bajo contenido en ácidos grasos monoinsaturados.

Por último, el déficit de ácido oleico puede resultar, asimismo, en la inhibición del crecimiento axonal y, subsecuentemente, en un defecto en la formación de las conexiones sinápticas. En este sentido, el cerebro de los enfermos con el síndrome de Down presenta menor número de conexiones interneuronales, lo que de por sí podría explicar el retraso cognitivo, así como la neurodegeneración que se produce en las etapas tardías de la enfermedad.

En resumen, un déficit de albúmina puede impedir el correcto desarrollo perinatal del cerebro del enfermo, al disminuir las señales que dirigen la disposición final del córtex y de otras estructuras cerebrales. Durante la vida adulta, la falta de albúmina deja desprotegido el Sistema Nervioso Central frente a los efectos neurodegenerativos del beta-amiloide. Es necesario destacar que los enfermos de Alzheimer presentan también bajas concentraciones de albúmina en sangre, lo que indicaría la existencia de un mecanismo común de la neurodegeneración en ambos síndromes.

Si fuera así, quizás podríamos evitar el deterioro cognitivo con el uso terapéutico de la albúmina sérica humana. Pero, aun en el caso de que este tratamiento fuera insuficiente para evitar el desarrollo de la enfermedad, lo que parece fuera de toda duda es que el tratamiento mediante plasmaféresis, es decir, mediante la sustitución de la albúmina del enfermo por albúmina humana libre de beta-amiloide, conseguirá mejorar el pronóstico de estos enfermos, si con ella conseguimos detener la neurodegeneración tipo Alzheimer característica del síndrome de Down.

EPÍLOGO

Comprendo, señoras y señores académicos, queridos amigos, que estén pensado que todas estas propuestas pueden ser un nuevo intento fallido de acercarse al tratamiento de estas gravísimas enfermedades y les dispense de pensar que estas ideas pueden dar un nuevo motivo de frustración a los familiares de los pacientes. Por eso les propongo que, para disipar de nuestra mente esta sincera inquietud, escuchen con sosiego esta pequeña poesía:

*La luna llorando dice:
Yo quiero ser una naranja.
No puede ser, hija mía,
aunque te pongas rosada.
Ni siquiera limoncito.
¡Qué lástima!*

Este fragmento de las “Canciones de luna”, de Federico García Lorca, parece reflejar, con esa sencillez ingenua y a la vez clarividente que caracteriza a la poesía de Lorca, nuestras dudas cuando abordamos un problema tan complejo como es el de intentar curar enfermedades tan graves como las que hemos mencionado anteriormente. Sin embargo, estos versos dibujan a la perfección el camino que debemos transitar para lograrlo. Es decir, no podemos convertir la luna en una naranja, pero estamos en camino de convertir la naranja en un limoncito.

Por ello, hagamos oídos sordos a los pesimistas augurios, aquéllos que a diario maltratan nuestra alegría diciendo lo que nunca lograremos y abordemos con esperanza nuestro modesto trabajo. No perdamos la alegría de seguir en el intento, pues si no, seremos acreedores del anatema de Schiller cuando, en su “Oda a la alegría”, dice:

¡Pero que el hombre a quien esta felicidad no le fue acordada se deslice llorando fuera del lugar en que nos reunimos!

No, creamos en lo que de bueno tiene el hombre, trabajemos para traer la salud y la felicidad a los que nos rodean y quizás entonces podremos disfrutar de la alegría y terminar con Schiller diciendo:

Todos los seres beben la alegría en el seno de la naturaleza; los buenos y los malos siguen las sendas de las flores.

He dicho.

DISCURSO DE CONTESTACIÓN
DEL
EXCMO. SR. D. FEDERICO MAYOR ZARAGOZA

*“... y no cesaremos en nuestro empeño,
porque podemos inventar el mañana,
porque podemos anticiparnos...”*

Excma. señora Presidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia,

Excmas. y Excmos. señoras y señores Académicos,

Señoras y señores,

Llega a ocupar el sillón número 29, que en su día perteneció al Profesor D. Gregorio Varela, el distinguido docente, investigador, profesional farmacéutico y dilecto amigo, el Profesor D. José María Medina. Conozco al Profesor José María Medina desde hace más de cuatro décadas. Hemos trabajado juntos, hemos colaborado durante muchas horas de intensa vida universitaria. Hemos hablado de lo divino y de lo humano, de la ciencia y del mundo, y hemos compartido siempre el anhelo de que el conocimiento se aplique en beneficio de todos los seres humanos, todos iguales en dignidad, sin excepción.

El Profesor José María Medina, sereno, ponderado, siente una especial atracción por las “excentricidades bioquímicas que el neonato presenta...” a quien las sabe encontrar. Recuerdo cuando, hace ya muchos años, le encargué en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Granada

el desarrollo de la entonces incipiente “bioquímica perinatal”. Si en algún momento la interacción genética-epigenética resulta en interesantísimas variantes fisiopatológicas es en las horas previas y posteriores a la adquisición de la autonomía funcional del recién nacido. Es en estos momentos cuando la irreversibilidad potencial de algunos procesos exige actuar con apremio. Es la “ética del tiempo”, acuciada por caminos sin retorno y la vulnerabilidad propia de neuronas precariamente mielinizadas. A veces, en lo inesperado está la esperanza.

La primera “excentricidad” que estudió el Profesor Medina fue el acúmulo en sangre del ácido láctico, que se convierte en auténtica fuente energética principal inmediatamente después del parto. El feto acumulaba –logró descubrir– una considerable cantidad de ácido láctico durante las últimas semanas de gestación para asegurar la disponibilidad de “combustible” para el “despegue a la vida”.

Y –cuento todo eso para trasladarles algunos de los rasgos más distintivos de la semblanza del nuevo académico– siguió su espíritu tan cautivado por el ácido láctico que no sólo descubrió de dónde procedía sino, y no fue fácil, hacia dónde se dirigía: al cerebro, en el cual actuaba de sustrato tan temprano como preferido. Y pudo así explicar, con profunda satisfacción, las causas del trauma hipóxico-isquémico del recién nacido.

Fue así como, además de las publicaciones científicas correspondientes, pronunció su discurso de ingreso a la Real Academia de Medicina de Salamanca, en 2010, titulado: “El ácido láctico: de villano a héroe de la homeostasis energética perinatal”.

Siempre fascinado por excentricidades sucesivas –a veces en lo inesperado está la esperanza– se adelantó luego en la selva del tejido nervioso, árbol a árbol, rama a rama, liana a

liana... logrando demostrar que las neuronas, sin detestar la glucosa ni los cuerpos cetónicos, se mostraban, ellas también, fascinadas por el ácido láctico que les llega ordenadamente transportado de astrocito en astrocito.

Pero —¡otra excentricidad inesperada!— los astrocitos resultaban ser no sólo transportadores de ácido láctico sino consumidores... para, y esto era lo sorprendente, utilizar parte de este sustrato en la síntesis de “una enigmática molécula que exportaban al exterior celular”. El Profesor Medina la identificó pronto: era ácido oleico. “Del láctico al oleico, una vida entre dos ácidos de pro”, podría titularse esta importante etapa de la vida científica del Dr. José María Medina.

El ácido oleico resultó ser un factor decisivo en el desarrollo psicomotor del recién nacido. Pero, además y aún más sorprendente, el ácido oleico actúa como agente neurotrófico, induciendo la proteína asociada al crecimiento axonal, denominada GAP-43.

En los astrocitos, tras el cierre de las uniones comunicantes, se produce un aumento de la captación de glucosa destinada a la síntesis de ribosa-5-fosfato, compuesto necesario para la duplicación del material genético. El equipo del Dr. Medina ha estudiado con detalle los mecanismos necesarios para desencadenar y mantener la proliferación celular. A este respecto, ha esclarecido el importante papel de la conexina 43, proteína que forma las “conexiones” en los astrocitos. La disminución de la actividad de la conexina 43 en células de glioma tiene una importante aplicación terapéutica.

La inmadurez del cerebro del neonato es manifiesta y se debe a un “salto neoténico” (más bien “sobresalto”) que el Profesor Medina ha descrito minuciosamente en su publicación “Origen neoténico de la mente”, correspondiente al discurso pronunciado en la toma de posesión, el día 11 de diciembre de 2002, como Académico de Número de la Real Academia

de Doctores de España, corriendo la contestación a cargo del Profesor Julio Rodríguez Villanueva, mentor también del Profesor Medina, como de tantos y tantos otros...

En uno de sus capítulos titulado “El nacimiento de la vida o el insólito y definitivo triunfo sobre la entropía”, describe, de forma atractiva y rigurosa a la vez, las etapas que pueden conducir desde la luz a los seres vivos, y a la especie humana... sin la cual todo el universo sería imperceptible.

“La expansión del cerebro o la historia de la mente” constituye la culminación del fantástico recorrido que conduce al prodigio de la existencia humana. La axogénesis y la sinaptogénesis, unidas al desarrollo postnatal del cerebro humano—donde relata otra “excentricidad”, la más relevante, la de la estrategia neoténica— que, al no ser precoz, puesto que la mayor parte de su desarrollo tiene lugar después del parto, puede alcanzar las desmesuradas características que le distinguen tanto en aspectos estructurales como intelectuales. Los primates son precoces, como la inmensa mayoría de los animales. Menos mal—lo decimos como investigadores sin comprender esta excepción— que la rata nos acompaña en nuestra no precocidad y, al igual que la especie humana, ha realizado (a menor altura, eso sí) un “salto neoténico” evolutivo.

Esta feliz y extraña coincidencia la comenta con gran finura el Profesor Medina en el epílogo de su trabajo, basado en la famosa frase de Aristóteles: “Parturium montes, nascetur ridiculus mus”, “Parieron los montes y dieron lugar a un ridículo ratón”.

“La respuesta a cómo tiene lugar el salto neoténico, escribe el Profesor Medina, es bien sencilla: se produce por el adelanto del parto en la especie humana. Es decir, se trata de un parto prematuro... Es una respuesta al *cómo* pero no al *por qué*”. El fenómeno de la gran encefalización propia de la especie humana podría explicarlo.

Ácido láctico, ácido oleico, astrocitos... neuronas que incorporan el ácido oleico a los fosfolípidos constituyentes de las membranas... pero, de nuevo “sorprendentemente”, la presencia del ácido oleico causaba una profunda transformación de las neuronas, induciendo su diferenciación y comportándose –acaba de explicarlo con detalle el nuevo Académico– como un factor neurotrófico.

En su laboratorio observaron que las concentraciones de ácido oleico se incrementan de forma espectacular tras el nacimiento, lo que sugiere que el desarrollo postnatal del cerebro está dirigido por el ácido oleico.

Y, en este momento mismo, como núcleo dorado de su discurso, el Profesor Medina ha desvelado que la albúmina sérica era la señal primigenia que dirige la síntesis y secreción del ácido oleico. La albúmina sérica es la homóloga en la vida adulta de la alfa-fetoproteína...

En el excelente discurso de ingreso que acabamos de escuchar –con el título de “La albúmina sérica: una posible arma terapéutica en la enfermedad de Alzheimer y el Síndrome de Down”– el Profesor Medina presenta unos resultados –y fíjense que, por una vez, me parece aceptable la acepción, valga la redundancia, que da a la palabra “arma”– de extraordinario interés por su posible aplicación práctica. Todos deseamos que se cumplan, al menos parcialmente, las implicaciones terapéuticas que tendría el hecho de haber contribuido a la resolución del gran desafío que representa, en las enfermedades neurodegenerativas, el acúmulo de las proteínas beta-amiloides.

Sí, todos le deseamos que siga usted hallando sorpresas y acontecimientos excéntricos en sus investigaciones. Ojalá que este heterodímero confirme, como antes apuntaba, que, en ocasiones, “lo inesperado es nuestra esperanza”.

Breve síntesis de su trayectoria

Licenciado en Farmacia en la Universidad de Granada (octubre de 1967). En 1972 fue Premio Extraordinario del Doctorado. Su tesis, que tuvo la satisfacción de proponer y dirigir, estudió el efecto de la fenetilbiguanida (fenformina) sobre la gluconeogénesis en hígado perfundido de rata.

Desde 1967 era Profesor Ayudante. Formó parte del grupo que se trasladó al Departamento de Bioquímica de la Universidad Autónoma de Madrid, donde ejerció como Jefe de la Sección de Bioquímica Perinatal del Instituto de Biología Molecular (UAM-CSIC) desde 1973.

En 1975 fue nombrado Profesor Adjunto Numerario y, dos años más tarde, Profesor Agregado, después de haber sido contratado e interino. Fue Director del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Autónoma de Madrid durante cinco años y, en 1981, accedió al cargo de Catedrático de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad de Salamanca. Ha sido también Director del Instituto de Biología Molecular Severo Ochoa (UAM-CSIC).

En 1987 obtuvo el título de Farmacéutico Especialista en Bioquímica Clínica.

Excelente docente de bioquímica en las licenciaturas de Farmacia, Química, Biología, Medicina, Veterinaria y Bioquímica, así como en diversos cursos de grado y de post grado.

Un profundo conocimiento de los mecanismos bioquímicos cerebrales le llevó a la Jefatura del Laboratorio de Neuroquímica del Instituto de Neurociencias de Castilla y León (INCYL).

Ha sido becario del British Council (Oxford, Laboratorio de Bioquímica del Profesor Hans Krebs, 1972-73); de

la Fundación Glubenkian, en Oeiras, sobre fisiología celular; del FEBS Youth Found, sobre “transporte de membrana y acoplamiento de energía”, en Zurich; así como del Ministerio de Educación y Ciencia, en su programa de formación de personal docente e investigador, en los años 1969-1972.

Como ya he indicado, en 1972-73 tuvo el privilegio de investigar, como fue mi caso unos años antes, en el laboratorio del Profesor Hans Krebs, Premio Nobel de Fisiología o Medicina, en Oxford.

Es Miembro de Número de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular, de la Biochemical Society del Reino Unido, de la New York Academy of Sciences y de la International Society of Neurochemistry.

Principal investigador de diversos proyectos financiados por la Comisión Asesora de Investigación Científica y Técnica; la Dirección General de Política Científica; la Comisión Interministerial de Ciencia y Tecnología; la Fundación Ramón Areces; la Consejería de Educación y Cultura de la Junta de Castilla y León; el Fondo de Investigaciones Sanitarias (FIS)... Ha trabajado, así mismo, en diversas acciones integradas con Francia y el Reino Unido.

Ha sido director de 21 tesis doctorales (12 de ellas con Premio Extraordinario) y 43 trabajos de licenciatura.

Como corresponde a su intensa vida docente e investigadora, ha publicado más de cien artículos en revistas con evaluadores externos, 42 libros y monografías, 32 revistas y proceedings de revistas y 250 comunicaciones a congresos.

Como ya he subrayado, el campo de investigación en donde ha alcanzado mayor notoriedad es el de la “neurobioquímica del desarrollo”.

Para completar los rasgos que nos permitan acercarnos mejor a las múltiples facetas de la trayectoria humana y profesional del nuevo académico, citaré:

- Miembro del Consejo Científico de la Fundación Ramón Areces.
- Miembro de Número del Capítulo Español de Club de Roma.
- Premio Reina Sofía de Investigación sobre la Prevención de Deficiencias (1992).
- Premio a la trayectoria científica del Instituto Danone (2004)
- Premio “María de Maetzu” de la Universidad de Salamanca a la Excelencia Científica (2008).

Es Académico de Número de la Real Academia de Medicina de Salamanca y de la Real Academia de Doctores de España. Es Académico correspondiente de la Academia de Medicina de México. Ha sido Académico correspondiente de esta Real corporación.

Inventar el mañana

Como aprendí de mi inolvidable maestro el Profesor Ángel Santos Ruiz, lo que realmente importa en el científico, lo que constituye la esencia de su dedicación apurando todos los momentos del misterio de la existencia, es el compromiso con todos los seres humanos y, especialmente, con las generaciones venideras, para contribuir a la calidad de vida, para que todas puedan hacer uso de esta “excentricidad” fantástica e inexplicable que representa la capacidad creadora. Contribuir, en palabras del Profesor Krebs, con los avances científicos a “paliar o evitar el sufrimiento humano”.

Sí: los intelectuales, los científicos, los docentes, los universitarios, los artistas... debemos situarnos en la vanguardia de la movilización que permita los cambios radicales que son imprescindibles para que todos los seres humanos, y no unos cuantos, se beneficien de las facultades distintivas de la especie humana y del progreso científico.

Los universitarios debemos implicarnos en estos cambios que ya se vislumbran y que harán que se amplíe rápidamente el barrio de los privilegiados en la aldea global. Actualmente sólo residimos en este barrio el 20% de los habitantes de la Tierra. Los demás, en gradientes distintos de precariedad, participan sólo indirectamente de los fantásticos avances conseguidos.

Y, sin embargo, al final de la Segunda Guerra Mundial, en momentos de inmensa tensión humana por los trágicos acontecimientos que acababan de vivir —y sobre todo, de morir— por las víctimas incontables de una conflagración despiadada, llegaron a la conclusión de que debían de ser “los pueblos” los que tomaran en la mano las riendas de su destino. Y así se inicia la Carta de las Naciones Unidas. Pero después, los pueblos no fueron convocados. Ni se repartieron los beneficios de la explotación de los recursos naturales; ni se dejaron guiar en la gobernación mundial por los principios democráticos tan lúcidamente establecidos en la Constitución de la UNESCO y en la Declaración Universal de los Derechos Humanos. Y se cambiaron los valores éticos por los del mercado; la democracia que representaban todos los países en el seno de las Naciones Unidas por unos grupos plutocráticos de 6, 7, 8, ahora 20 países... ¿Cómo pretenden los países más prósperos asumir la gobernación del conjunto del planeta? El resultado está a la vista: una crisis múltiple (social, política, económica, alimentaria, medioambiental...) y una economía basada en la especulación, la deslocalización

productiva y la guerra (4 mil millones de dólares al día –no me canso de repetirlo- en armas cuando más de 60 mil personas mueren de hambre, de desamparo y olvido).

No obstante son tantas las maravillosas aportaciones que ha realizado el intelecto humano al descubrir, al inventar productos, aparatos, mecanismos... que pueden ampliar progresivamente la longevidad; que permiten atender debidamente las necesidades alimenticias, higiénicas y sanitarias del conjunto de la humanidad... Pero, para ello, será necesario romper el silencio secular, la condición de espectadores, de súbditos, de la mayoría de ciudadanos. Hemos sido testigos, no actores que participan, se involucran, se comprometen.

Ahora estamos viviendo momentos fascinantes porque, por primera vez, todos los seres humanos podrán expresarse en la inmensa plaza del ciberespacio y reforzarán las frágiles democracias actuales, que nos cuentan en las elecciones pero luego, normalmente, no nos tienen en cuenta; se incrementará la variedad, la diversidad, el pluralismo de la humanidad, nuestra gran riqueza, unida alrededor de unos principios universalmente respetados, nuestra fuerza.

Después de largos siglos de silencio, la humanidad empezará a expresarse. Después de largos siglos de marginación la mujer tendrá en la toma de decisiones, por fin, el mismo papel que hasta ahora se han reservado algunos hombres.

Durante siglos, hemos vivido convencidos de que debíamos aceptar las órdenes de los más fuertes, no de los más sabios. Y de pronto resulta –como con el ácido láctico- que lo que realmente cuenta en momentos críticos de auténticas inflexiones históricas son otros pilares, otros basamentos, otros espacios.

El Profesor Medina fue testigo, al final de la década de los 60, cuando siendo Rector de Granada escribí en la pizarra –pues daba clases de bioquímica de vez en cuando– la palabra “revolución”. Fuertes murmullos. Borré la “r” y quedó “evolución”. Sin evolución, que conserva algunas cosas y cambia las que deben cambiarse, la revolución, que siempre comporta violencia, es inevitable. Evolución-revolución: la diferencia es la “r” de responsabilidad. Lo ha contado usted muchas veces. Yo también, porque estoy y estaba convencido de que llegaría el momento en que muchos imposibles hoy serían posibles mañana, en que muchos invisibles hoy –aturdidos por noticias muy parciales y por espectáculos que nos distraen– se harían visibles mañana y permitirían tomar decisiones con conocimiento profundo de la realidad.

El Prof. Medina estuvo varias veces en Oxford, cuyo condado tiene un emblema en donde se lee “Sapere aude” “¡atrévete a saber!” Ambos lo hemos repetido también muchas veces: hay que atreverse a saber pero después hay que saber atreverse. Los pusilánimes dicen que hay que ser realistas y que la política es el arte de lo posible. Los realistas nunca cambiarán la realidad porque la aceptan. La política de verdad es el arte de lo imposible. Tenemos que fijarnos horizontes a la altura de nuestros sueños, de nuestros ideales, de los valores indeclinables, y ponerlos en práctica, demostrando que muchos imposibles hoy se transforman en feliz realidad. “Sólo los que son capaces de ver los invisibles son capaces de hacer los imposibles”, sentenció el cardiólogo norteamericano Bernard Lawn al recibir el Premio Nobel de la Paz en 1985.

Para ver los imposibles, como para ver las “excentricidades” en las que usted se ha convertido en gran especialista, es necesario el sentimiento permanente de que no podemos darnos por vencidos; el sentimiento permanente de que debe-

mos anticiparnos, prevenir, descubrir, inventar un futuro más acorde con la igual dignidad humana.

Dispuesto, eficiente, riguroso, perseverante. Siempre ha contado con el apoyo e inspiración de su mujer, María Pilar, excelente profesional, de extremada discreción y de los suyos. Se asoma, sin vértigo, al Tajo de Ronda... y luego mira hacia adelante. Pero se asoma igualmente al hondo pozo propio y luego contempla serenamente el porvenir. Recuerdo a su padre –que le aventajaba también en densidad de cejas- con su estilo pausado, sereno, crítico, positivo...

He cumplido lo que Real Academia me pidió: contestar a su discurso y darle la bienvenida. Me he inspirado en la profecía de Isaías (20,7-9) que dice “Voy a cantar en nombre de mi amigo / un canto de amor a su viña”. Ha sembrado usted mucho... Y seguirá teniendo en conjunto –siempre hay algún agrazón en medio de la uva- una buena cosecha. Se lo deseo de todo corazón por muchos años.

En nombre de la Real Academia Nacional de Farmacia, por los méritos profesionales, académicos y científicos que en usted concurren, deseo que su incorporación como Académico Numerario realce todavía el potencial de esta Real corporación.

Farmacéutico es el que descubre, produce, dispensa... fórmulas apropiadas para un tratamiento determinado. Hoy la sociedad necesita nuevas fórmulas, nuevos farmacéuticos... especialmente a los capaces de descubrir “excentricidades”.

Bienvenido, Profesor José María Medina, a la Real Academia Nacional de Farmacia.

He dicho.