



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

SOLEMNE ACTO DE INVESTIDURA COMO DOCTORES HONORIS CAUSA

Prof. Dr. D. Adriano Piattelli

*Catedrático de Patología Oral y Medicina en la Facultad de Odontología
de la Universidad de Chieti-Pescara, Italia*

Excma. Sra. D^a. María Teresa Miras Portugal

*Catedrática de Bioquímica de la Universidad Complutense de Madrid y
Expresidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia*

LOS JERÓNIMOS, 11 DE OCTUBRE DE 2016

IN LIBERTATEM VOCATI



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

Prof. Dr. D. Adriano Piattelli

*Catedrático de Patología Oral y Medicina en la Facultad de
Odontología de la Universidad de Chieti-Pescara, Italia*

**ENFERMEDADES PERIODONTALES
Y ENFERMEDADES SISTÉMICAS**

**DISCURSO DE INVESTIDURA
COMO DOCTOR HONORIS CAUSA**

MURCIA, 11 DE OCTUBRE DE 2016

Introducción

En los últimos años la asociación entre la enfermedad periodontal y múltiples enfermedades sistémicas ha sido ampliamente analizada. En concreto, se investigaron las formas en que la periodontitis crónica puede afectar a las enfermedades que aquejan a todo el cuerpo. La hipótesis de tales correlaciones no es tan reciente, si tenemos en cuenta que Hipócrates, el símbolo de la edad de oro de la medicina, sugirió que la extracción de los dientes comprometidos aliviaban la artritis, y más recientemente, en 1981, Miller sugirió que patógenos orales eran capaces de causar alteraciones a órganos distantes de la cavidad oral. En el siglo XXI se ha renovado el interés en la hipótesis de la asociación entre la inflamación periférica y las enfermedades sistémicas. Múltiples estudios clínicos han demostrado una correlación significativa entre la periodontitis crónica severa y diabetes mellitus tipo II, enfermedad cardiovascular, enfermedad pulmonar, artritis o parto prematuro. Además, recientes estudios transversales han sugerido la hipótesis de una asociación entre la periodontitis crónica y las enfermedades neurodegenerativas. Los resultados derivados de los estudios clínicos examinados son muy variables debido a las diferencias entre los sujetos inscritos, relacionados con la edad, el sexo, la presencia de factores de riesgo y la gravedad de la enfermedad.

La periodontitis crónica y enfermedades sistémicas

Efectos de la periodontitis crónica en la etiopatogenia de la enfermedad de Alzheimer

La expresión de la enfermedad periodontal indica un conjunto heterogéneo de patologías que pueden causar alteraciones funcionales y estéticas graves. La periodontitis es un proceso inflamatorio crónico que se caracteriza por la destrucción de los tejidos periodontales superficiales y profundos. Además, la genética afecta a la susceptibilidad del huésped individual. Los factores determinantes en la aparición de la enfermedad periodontal son la alteración de la microflora bacteriana, la respuesta inmune del individuo y la presencia de factores de riesgo. Se establece un proceso inflamatorio crónico y persistente con la liberación de un número importante de mediadores inflamatorios, incluyendo la proteína C reactiva (CRP), el fibrinógeno, la interleucina 1 β (IL-1 β), IL-6 y el factor de necrosis tumoral α (TNF- α). La investigación científica ha estado más enfocada en los mecanismos por los cuales al cerebro, afecta a la respuesta inmune, pero en la última década ha aumentado el 'interés en las formas en las que el sistema inmune puede contribuir al desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Este creciente interés se debe a una mayor comprensión de los mecanismos mediante los cuales tiene lugar la comunicación entre las citocinas pro-inflamatorias y el sistema nervioso central (SNC). La enfermedad de Alzheimer es una enfer-

medad neurodegenerativa del cerebro y consiste en un deterioro progresivo de la función cognitiva (pensamiento racional, la memoria, el lenguaje) que se ha traducido en el compromiso de la vida personal y relacional. Los mecanismos patogénicos implicados en la enfermedad de Alzheimer no se entienden completamente, pero surgieron del análisis post mortem que la neuropatología característica distintiva de la enfermedad de Alzheimer es la deposición de placas de beta-amiloide (A β) en la sustancia cerebral. La acumulación de estos agregados es un elemento clave para el inicio de los procesos pro-inflamatorios y oxidativos por microglia activada. La interacción entre la microglia activada y placas de A β induce la liberación de citoquinas pro-inflamatorias. La hipótesis es que estos mediadores inflamatorios afectan al funcionamiento del sistema nervioso central demostrándose que las citoquinas pro-inflamatorias son capaces de estimular el nervio vago, estimulación independiente de citocinas pro-inflamatorias en el SNC. Se supone que las moléculas pro-inflamatorias pueden exacerbar la respuesta neuro-inflamatoria a través de dos mecanismos: la sistémica y/o caminos de los nervios. Los estudios clínicos sugieren la periodontitis crónica, enfermedad inflamatoria periférica, como un factor de riesgo para la aparición clínica y la progresión de la enfermedad de Alzheimer a través de un fenómeno de translocación bacteriana y/o indirectamente, en virtud de los mecanismos anteriores, la determinación de la amplificación de los procesos neuro-inflamatorios. El objetivo de las investigaciones fueron estudiar las bacterias como *Porphyromonas Gingivalis* en la patogénesis de la

enfermedad de Alzheimer, la evaluación de la posible relación entre β -amiloide y los determinantes de la periodontitis (mediadores inflamatorios y la actividad enzimática). Los estudios de laboratorio, realizados post mortem, mostraron la presencia de productos bacterianos en la sustancia del cerebro de los afectados por la enfermedad de Alzheimer, en relación con los microorganismos *Porphyromonas Gingivalis*. Se podría hablar de que la periodontitis crónica es un posible factor negativo en la evolución de la enfermedad de Alzheimer. En la actualidad, sin embargo, sólo se puede asumir que las bacterias periodontales, a través de un mecanismo fisiopatológico, como la amplificación de la cascada inflamatoria, ejercerían una influencia negativa en la función cerebral.

Enfermedades cardiovasculares

Los estudios longitudinales mostraron una relación entre la enfermedad periodontal y los eventos cardiovasculares. El término “enfermedad cardiovascular” (ECV: enfermedades cardiovasculares) identifica un amplio espectro de enfermedades que afectan al corazón y el sistema vascular. La ECV es la principal causa de muerte en el mundo, según los cálculos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el número de muertes debidas a ellas llegará a 23,3 millones en 2030. En la base de las enfermedades cardiovasculares se tiene la arterosclerosis, una condición patológica caracterizada por alteraciones de la pared de las arterias de gran y mediano calibre, que

pierden su elasticidad debido a la acumulación de calcio, colesterol, células inflamatorias y material fibrótico. La placa aterosclerótica consiste en un engrosamiento de la íntima (la capa más interna de las arterias, cubierto con endotelio y en contacto directo con la sangre) de las arterias, debido principalmente a la acumulación de material lipídico (principalmente colesterol) rodeado por una capa fibrosa de tejido conectivo. El desarrollo de la aterosclerosis se ve agravado por factores de riesgo (tabaquismo, hipertensión, dislipidemia, diabetes, etc.). En los estudios longitudinales que describen la incidencia de eventos cardiovasculares, un exceso de riesgo se ha reportado para el desarrollo de eventos cardiovasculares en personas con una periodontitis. Los datos de ensayos clínicos y una reciente revisión de la literatura realizada por la American Heart Association y aprobado por la Asociación Dental Americana, han confirmado que la periodontitis se asocia con la enfermedad vascular aterosclerótica, independientemente de los factores de confusión conocidos. En pacientes con patologías inflamatorias de la cavidad oral se ha observado, también, un aumento en el riesgo de infarto de miocardio y la aterosclerosis. Ensayos clínicos controlados indican que el tratamiento de la periodontitis mejora la función endotelial. Se han sugerido algunos mecanismos que podrían ser la base de la asociación, tales como:

- La diseminación sistémica de las bacterias periodontales de la cavidad oral (bacteriemia).
- La presencia de una gran producción local de mediadores de la inflamación en la bolsa periodontal, que luego entran en el torrente sanguíneo.

-La inducción de un estado protrombótico.

-La inducción de una dislipidemia.

-La asociación de uno o más de los mecanismos anteriores.

Es concebible, también, que la variabilidad genética podría modificar y /o amplificar estos posibles mecanismos que explican la relación entre la enfermedad periodontal y las enfermedades cardiovasculares. Se ha demostrado que las bacterias o los productos bacterianos pueden llegar a los sitios distales: en las preparaciones obtenidas a partir de endarterectomía carotídea, la presencia de ADN bacteriano de patógenos periodontales tales como *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. Intermedia*, es frecuente. Productos y factores de virulencia bacteriana junto con sus componentes estructurales, tales como lipopolisacárido, inducen a los fibroblastos gingivales para producir mediadores pro-inflamatorios. Los altos niveles de muchos de estos mediadores se asociaron estadísticamente con un mayor riesgo cardiovascular y se consideran como potenciales enlaces entre la infección periodontal y enfermedades cardiovasculares. Otra posible asociación puede estar relacionada con la estimulación de una respuesta autoinmune debido a la similitud - mimetismo molecular - entre los péptidos antígenos de origen bacteriano y las proteínas humanas, tales como proteínas HSP (proteínas de choque térmico), que se producen en tejidos bajo estrés, el estrés que puede ser debido a un proceso inflamatorio. Una serie de factores hemostáticos y fibrinolíticos, tales como fibrinógeno y el

activador tisular del plasminógeno (t-PA), está asociado con el desarrollo y la maduración de las placas ateroscleróticas. Un alto valor de fibrinógeno es indicador de la inflamación sistémica, que promueve la activación de células endoteliales y la agregación plaquetaria. En un estudio de cohortes de pacientes con enfermedad de las arterias coronarias (CD), aquellos con enfermedad periodontal tenían niveles de fibrinógeno alto y la proteína C reactiva mayor que aquellos con sólo un CD. Otros estudios han puesto de manifiesto el efecto beneficioso del tratamiento periodontal a los valores de fibrinógeno, proteína C-reativa, IL-6 y T-PA11. Estudios en ratas sin la apolipoproteína E han puesto de manifiesto que los patógenos periodontales de la infección periodontal pueden promover la formación de ateromas en animales con dislipidemia por causas genéticas o factores dietéticos. A la luz de lo que se informa en la literatura disponible en la actualidad:

1. La prevención y el tratamiento temprano de periodontitis pueden tener un papel en la mejora de la salud cardiovascular.
2. La cooperación interdisciplinaria entre los cardiólogos, internistas y dentistas podría favorecer una descripción más precisa del estado inflamatorio en pacientes con enfermedad cardiovascular y la periodontitis.

La periodontitis y la diabetes

La asociación entre la diabetes y la periodontitis es un concepto muy lejos de nuevo. A finales de los años 40 Cohen y Fosdick habían puesto de manifiesto una relación entre la enfermedad periodontal (EP) y DM destacando

el aumento de la prevalencia de la enfermedad periodontal en diabéticos que en los no diabéticos. Y es la inflamación del factor crucial la que ayuda a explicar la relación bidireccional entre la diabetes y la enfermedad de las encías. La inflamación precede a la aparición de la diabetes y se relaciona con resistencia a la insulina, con el desarrollo de la diabetes y sus complicaciones. Experimentos clínicos y estudios en animales indican que en los pacientes diabéticos la hiperglucemia causa aumento de la producción de citoquinas tales como IL-1b, TNF-a e IL-6 que tienen un papel activo en la aparición de la periodontitis. La evidencia disponible sugiere que el DM no parece afectar el número y tipo de microorganismos periodontales en la cavidad oral. Los estudios en animales y los datos epidemiológicos han sugerido que la inflamación sistémica determinada por la enfermedad periodontal, que se caracteriza por un aumento en la concentración sérica de IL-6, CRP y TNF-a, podría exacerbar el estado inflamatorio del sujeto diabético. Por otra parte, el consiguiente estrés oxidativo y la inflamación sistémica observada en pacientes que sufren de MP podría aumentar la oxidación de lípidos que a su vez tendría un efecto proinflamatorio en el paciente diabético. El empeoramiento del estado inflamatorio determina tanto en el paciente periodontal y diabético, como en el paciente periodontal no diabético, el empeoramiento de control de la glucosa.

Los últimos estudios han demostrado la diabetes como un factor de riesgo importante para la periodontitis, y esta como una importante complicación de la diabetes, por lo que fue llamada la “sexta complicación”.

En muestras de población superior a 1.000 sujetos, se encontró 5 años después, un aumento en el valor promedio de CAL, pero no de la bolsa (profundidad PPD), que se asoció con un aumento de la hemoglobina glicosilada (HbA1c - forma de hemoglobina utilizado para identificar la concentración promedio de glucosa en plasma durante los últimos 3 meses).

Durante los últimos años se ha hecho evidente que la relación entre la DM y MP no se limita a la mayor prevalencia y una mayor gravedad de la MP en los sujetos diabéticos, pero es mucho más compleja y bidireccional. En una revisión reciente de la literatura llevada a cabo por Engebretson y Kocher, en el último taller en periodoncia, se incluyeron y analizaron nueve ensayos randomizados. Los estudios meta-análisis, que como medida de control de la glucemia ha utilizado la HbA1c, mostró una modesta, pero estadísticamente significativa, reducción de la HbA1c (mejora del 0,36% de glucosa) en el grupo de pacientes diabéticos que habían sido sometidos a un tratamiento periodontal quirúrgico y no quirúrgico. Esto significa que una terapia periodontal eficaz sería capaz de contribuir al control de la glucemia en pacientes diabéticos, y por lo tanto reducir el riesgo de complicaciones causadas por la diabetes en sí.

Excma. Sra. D^a. María Teresa Miras Portugal

Catedrática de Bioquímica de la Universidad Complutense de Madrid y Expresidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia

**LA NEUROTRANSMISIÓN
PURINÉRGICA FRENTE AL RETO
DE LA NEURODEGENERACIÓN DEL
CEREBRO ADULTO**

**DISCURSO DE INVESTIDURA
COMO DOCTORA HONORIS CAUSA**

MURCIA, 11 DE OCTUBRE DE 2016

Excelentísimo Sr. Presidente de la Universidad Católica San Antonio de Murcia, Don José Luis Mendoza Pérez.

Excelentísima Rectora Magnífica, Doña Josefina García Lozano.

Excelentísima Vicerrectora de Investigación, Doña Estrella Núñez Delicado.

Excelentísimas e Ilustrísimas Autoridades.

Distinguidos Profesores y Estudiantes

Señoras y Señores.

Agradecimientos

Quiero agradecer el gran honor que supone para mí el nombramiento de Doctora Honoris Causa por la Universidad Católica San Antonio de Murcia. La distinción que me otorgan al pertenecer a tan selecto grupo de Doctores es una muestra de su generosidad y desearía no defraudarles. Es esta una universidad joven, pero con un merecido prestigio por la claridad con que presenta los objetivos de formación de sus estudiantes, adaptados a las necesidades del mundo real, sin olvidar abrir la mente a los retos del futuro. Estos objetivos se cumplen, sin duda, gracias al esfuerzo, calidad y vigor de un profesorado docente e investigador altamente cualificado y comprometido con la filosofía de la UCAM.

Mi agradecimiento más sincero a su Presidente, a su Rectora y a su Consejo de Gobierno, por haber apoyado la propuesta de mi nombramiento, y de modo muy especial a la Vicerrectora de Investigación de la Universidad Doña Estrella Núñez Delicado. Con ella comparto la pasión por la investigación y la docencia, y agradezco que haya hecho una presentación tan cariñosa de mi persona.

Mención especial en mis agradecimientos, y deseo hacerlo explícito, al Profesor Don Pedro Guillen, excepcional profesional y compañero Académico de la Real Academia Nacional de Farmacia, Dr. Honoris Causa y Decano Honorario de la Facultad de Medicina de esta Universidad, con el que comparto la filosofía y el convencimiento de que siempre es necesario aportar en lo positivo, sea cual sea la empresa vital.

Sería injusto que finalizara estos agradecimientos sin dejar constancia de que mi esposo Fernando Varela y nuestros hijos Fernando y Alberto han sido siempre la roca firme de mi vida frente a los tornados a los que está sometida la ciencia en nuestro país. De igual modo, este honor es compartido con mi grupo de investigación, pues el viaje de cualquier científico implica compartir y colaborar con investigadores de muy diversas áreas y lugares. Avanzar en el conocimiento de la ciencia de la vida no es una tarea individual y solitaria. Requiere también saber centrarse y renunciar a algunas cosas, pues como decía Baltasar Gracián: *“Hay ocupaciones que son polillas del tiempo precioso”*.

Introducción

En la génesis de la ciencia, sea cual sea el área de conocimiento, para avanzar, es siempre esencial una nueva mirada, limpia e ingenua, desligada de los viejos paradigmas, o de los imperantes en un momento dado. Los grandes logros tecnológicos han permitido aproximarse de modo experimental a cuestiones que antes pertenecían al mundo creativo de la ciencia ficción. Muchos de nosotros cuando éramos muy jóvenes soñamos con esos mundos. Somos miles de millones de humanos soñadores de cosas “supuestamente imposibles”. Pero, la gran diferencia entre un soñador y un creador es que estos últimos tratan de dar forma y enfrentarse a los retos de construir lo que sueñan.

La ciencia, como las grandes catedrales, requiere planificación, poner cada una de las miles de piezas en el orden adecuado, necesita muchos cerebros pensando, muchas manos hábiles y sobre todo de muchas voluntades unidas con un fin. Construir la ciencia de la vida requiere estudiar cada pieza por separado y después, si hay suerte, saber dónde, cómo y cuándo tienen que ubicarse y funcionar en una célula específica de un organismo específico. Añadiendo, el saber lo que pasa cuando está dañada.

En mi ya extensa vida científica y junto con mi grupo, hemos tratado de profundizar en unas piezas singulares, los nucleótidos de purina, el más co-

nocido es el ATP, que son esenciales en la movilización de la energía celular; esenciales como sillares del material genético de nuestra herencia y ahora también esenciales para comunicar las células entre sí. Filogenéticamente se encuentran entre los compuestos más antiguos empleados por los organismos, incluida la comunicación celular, desde las bacterias a los hongos, llegando a los humanos. Todas las células de nuestro organismo responden a sus estímulos y son esenciales en el funcionamiento del sistema nervioso, como neurotransmisores. Es este el último grupo aceptado como neurotransmisores, la familia de los compuestos purinérgicos, donde los nucleótidos de purina y pirimidina son los actores, con amplia presencia de receptores específicos y ciclos complejos en la biología celular.

Huelga decir que en sus inicios, los nucleótidos fueron considerados neurotransmisores heterodoxos, como casi todo lo nuevo en los comienzos. Gracias al intenso trabajo del profesor Geoffrey Burnstock, gran pionero y defensor de la señalización purinérgica, la situación es distinta y la señalización por nucleótidos es una de las áreas con más interés sobre todo al conocerse su potencial en farmacología. Los primeros éxitos fueron cosechados en el sistema vascular, con la aparición del clopidogrel (Plavix), primer compuesto inhibidor irreversible del receptor P2Y₁₂, tras ser metabolizado en el hígado. Su efecto impidiendo la formación de trombos supuso un antes y un después en el tratamiento y prevención del ictus cerebral y los riesgos en cirugías traumáticas. En lo que respecta a mi disertación, en neurociencia la

neurotransmisión purinérgica ha proporcionado una nueva perspectiva del desarrollo y maduración del sistema nervioso, su mantenimiento, y en las etapas de declive por causas de envejecimiento normal o patológico. En cada etapa se ha visto la posibilidad de descubrir nuevas dianas farmacológicas y en pleno desarrollo farmacológico algunas de estas dianas.

El escenario en el que trabajamos los neurocientíficos es el sistema nervioso y podemos hacernos una idea de su inmensidad considerando que el cerebro humano contiene al menos cien mil millones de neuronas (100.000.000.000) cada una con una localización y función precisa. Sin olvidar que hay al menos cinco veces más de astrocitos, cada vez más protagonistas y menos desconocidos. ¿Cómo alcanzar ese desarrollo organizado, mantener su función, evitar su deterioro normal con el envejecimiento y restaurar su función cuando se sufren lesiones traumáticas o derivadas de enfermedades neurodegenerativas?

Es indispensable llegados a este punto hacer una referencia a nuestro gran científico Ramón y Cajal. Gracias a su trabajo experimental y su gran intuición, sentó las bases de la neurociencia moderna y sus teorías e hipótesis han centrado el trabajo de los científicos durante más de un siglo. La teoría neuronal según la cual las células nerviosas son entidades individuales que ocupan posiciones específicas en la citoarquitectura del sistema nervioso. Un maravilloso ejemplo de fusión de ciencia y arte son los volúmenes de

sus obras que se editaron por primera vez y como conjunto de su trabajo en francés: “Histologie du système nerveux de l’homme et des vertébrés”, Paris 1909. En España, dolorosamente, su edición cuidadosamente presentada en español se efectúa en 1992, gracias a la ingente labor del profesor Carlos Belmonte.

En el cerebro lógico de Cajal la organización neuronal del cerebro requería lanzar a la arena de la ciencia dos hipótesis:

- La primera, la existencia de estructuras organizadas de conexión, lo que hoy llamamos sinapsis donde se liberarían compuestos químicos capaces de alcanzar a la célula adyacente, lo que hoy día denominamos neurotransmisores. El primer neurotransmisor lo descubre 30 años más tarde el científico alemán Otto Loewi y fue la acetilcolina. Desde entonces una treintena de compuestos sencillos en combinaciones variables entre sí y con diversos péptidos, son liberados en las sinapsis químicas para conectar neuronas específicas. En esta área hemos trabajado arduamente y en 1989, descubrimos nuevos neurotransmisores de naturaleza nucleotídica, los diadenosinopolifosfatos, como veremos más adelante.

- La segunda hipótesis la plantea Cajal en 1890, cuando descubre en sus preparaciones de neuronas de animales jóvenes unos engrosamientos al final de los axones, con morfología característica que denomina “cono de crecimiento”.

Cajal postula la hipótesis de que esas prolongaciones son las que formarán los contactos sinápticos al final de la etapa de crecimiento axonal, siendo necesario para dirigir los axones hacia su destino la existencia y acción de factores de crecimiento quimioattractantes o quimiotróficos. No fue hasta 60 años más tarde, en 1954, que Rita Levi Montalcini descubre el factor de crecimiento nervioso, conocido como NGF y lo extrae de las glándulas salivares de ratón.

Actualmente conocemos un gran número de factores de crecimiento, todos ellos necesarios para orientar al axón y conseguir el perfecto cableado del sistema nervioso. Muchos de ellos y sus mecanismos, tanto en la etapa embrionaria de desarrollo cerebral, como de mantenimiento y reparación en la etapa adulta, son todavía desconocidos y constituyen el área más fértil y apasionante de las neurociencias.

Pasarían todavía muchos años, casi 100, hasta que se postulara la existencia de factores repelentes y la presencia en las membranas de las células neurales de moléculas orientadoras, algunas con nombres tan sugerentes como las semaforinas, netrinas etc... que permitieron comprender como se asocian los axones para formar los nervios y se deben, entre otros muchos, al trabajo original del Dr. Marc Tessier-Lavigne, actualmente presidente de la Universidad de Stanford. El desarrollo embrionario del cerebro de mamíferos con sus múltiples núcleos, cada uno con marcadores diferentes y evolución

espacio-temporal muy veloz, sigue siendo un área apasionante y difícil, que solamente algunos valientes osan estudiar, entre ellos el profesor y catedrático de embriología de Murcia, el Dr. Luis Puelles, sin duda un referente mundial. En esos dos grandes escenarios postulados por Cajal, el de los neurotransmisores y el de cómo funcionan, crecen y se diversifican las neuronas, he desarrollado mi carrera investigadora durante más de cuarenta años. Cuatro de ellos, los cursos 1982-83 al 1985-86, en la Universidad de Murcia. Acostumbrada al norte de España y de Europa, esto me pareció un paraíso con la alegría, hospitalidad y el saber fusionar en su suelo y sus gentes, más de 3.000 años de culturas mediterráneas diversas. Aquí surgieron muchas de las ideas que desarrollaría después al trasladarme a Madrid, hace ya 30 años.

El sistema purinérgico en el desarrollo y lesiones cerebrales.

El principal nucleótido el ATP, la adenosina trifosfato, esencial en todos los procesos vitales, resultó estar almacenado conjuntamente con los demás neurotransmisores clásicos, catecolaminas, acetilcolina, serotonina etc. liberándose conjuntamente y con capacidad de actuar al unísono en las células receptoras. Geoffrey Burnstock acuñó el nuevo término de co-transmisión, que en sí mismo es un nuevo paradigma. De hecho, en todos los estudios realizados con los neurotransmisores clásicos es necesario plantearse un escenario bastante más complejo del previsto.

En 1988 descubrimos que en las vesículas neurosecretoras, junto con las

catecolaminas se encontraban una gran diversidad de nucleótidos, además del ATP, entre ellos los diadenosinapolifosfatos, ApnA. Habían pasado 100 años desde el planteamiento de la teoría neuronal y la necesidad de comunicación sináptica entre las neuronas u otras células efectoras, pero ahora el escenario sináptico era mucho más rico y complejo. Esta situación se producía en otras vesículas y modelos como el órgano eléctrico del Pez Torpedo que se asemeja a la conexión sináptica de la unión neuromuscular, donde el ATP y los dinucleótidos acompañan a la acetilcolina, el primer neurotransmisor descubierto. Por añadidura, la situación era generalizable a todo tipo de vesículas neurosecretoras. Poco a poco nos habíamos metido de lleno en las entrañas de la neurotransmisión purinérgica mediada por nucleótidos y trabajamos intensamente tratando de comprender los eventos de biología molecular y celular que respondían a su ciclo funcional como neurotransmisores. Para ilustrar la juventud de nuestros descubrimientos, señalar que pocos meses antes de la fundación de la UCAM, en el año 1996, demostramos en las terminales del sistema nervioso central, la existencia a nivel presináptico de receptores ionotrópicos para diversos compuestos nucleotídicos y dinucleotídicos, siendo el Ap5A, descubierto por nuestro grupo, el más poderoso agonista del receptor de dinucleotidos, conocido actualmente como P2X1 y también del P2X3 implicado en la nocicepción de la señal dolorosa. Estos años fueron de recogida de frutos, pues se sumaron a la identificación de nuevos receptores la caracterización de transportadores de nucleótidos a orgánulos secretoras con mecanismos complejos pero

eficientes que se denominan cinéticas mnemónicas, es decir con memoria, solamente mencionadas con anterioridad en algún enzima raro y despistado y contando para ello con la colaboración del profesor y Catedrático de la Universidad de Murcia Don Francisco Garcia Carmona, un excepcional investigador de la cinética enzimática.

Resultado sorprendente la gran abundancia de receptores ionotrópicos de nucleótidos, pertenecientes a la familia conocida como P2X, desde el P2X1 al P2X7, capaces de asociarse como trímeros de subunidades idénticas o combinadas y localizados en la zona presináptica de las terminales sinápticas. Estas terminales de naturaleza colinérgica, aminérgica, peptidérgica o nitrérgica podían ser despolarizadas por los nucleótidos liberando su contenido para activar la zona post-sináptica.

Realmente el entorno del año 1996, fue la época en que nuestro grupo elaboró las coordenadas de la ciencia básica en neurotransmisión mediada por nucleótidos que fueron indispensables para acercarse con garantía y rigor a los problemas fisiopatológicos de gran relevancia en patologías nerviosas. El desarrollo de técnicas altamente sofisticadas, entre ellas el análisis funcional de terminales sinápticas individuales por microfluorimetría y video-imagen, seguido de su identificación mediante inmunocitoquímica, permitió demostrar, sin ningún género de duda, la existencia de receptores ionotrópicos de nucleótidos a nivel presináptico. Este hecho implicaba cambiar con-

ceptos inamovibles hasta entonces, ya que en las terminales presinápticas solamente era aceptada la presencia de receptores metabotrópicos moduladores con cascadas de señalización bien definidas.

Con el cambio de siglo y milenio, puesto a punto el escenario presináptico para los canales operados por ligando, pudimos profundizar en el funcionamiento sináptico en las etapas de desarrollo o en situaciones comprometidas de la supervivencia neuronal debidas a envejecimiento, lesión o enfermedades neurodegenerativas. Aspectos de máxima importancia en fisiopatología del sistema nervioso. Teníamos tantas posibilidades, que hacer uso de la libertad de elección de por dónde empezar era en sí mismo un dilema. Uno de nuestros clásicos, Don Francisco de Quevedo, lo expresó con las palabras más certeras:

*«...Y a nuestra libre voluntad es dado
Numerosa elección y transitoria:...»*

No había duda alguna, seríamos libres para elegir, pero una vez realizada libremente la elección seríamos prisioneros de la misma.

Pensamos que antes de comprender lo que pasa en las sinapsis comprometidas en enfermedades neurales o degenerativas, parecía más lógico, actuar con la sensatez de Don Santiago Ramón y Cajal, por ello nos decantamos por intentar comprender lo que pasa en las etapas tempranas del desarrollo, tomando como modelo las neuronas de cerebro fetal de ratón. Estos experimentos eran como entrar en la tercera fase y podíamos experimentar con

células vivas como afectaba la señalización mediada por receptores purinérgicos al desarrollo del cono de crecimiento axonal. Era el año 2008, así que con 118 años de diferencia estábamos manipulando el cono de crecimiento postulado por Cajal en 1890, como he mencionado en la introducción.

El cono de crecimiento axonal que controla el crecimiento de los nervios y su destino, resultó ser un lugar muy concurrido, por ello solo destacaremos lo referente al sistema purinérgico. Un nuevo miembro de la familia ionotrópica P2X, el P2X7, resultaría ser de especial importancia. Estábamos frente a un nuevo paradigma: El ATP liberado por el rudimentario e incipiente cono de crecimiento de la neurona embrionaria, bloqueaba el crecimiento del axón actuando sobre el receptor P2X7, el cual al activarse inundaba de calcio las propias terminales. Este ión, mediante cascadas internas de señalización, impedía la plasticidad del citoesqueleto neural y por lo tanto las nuevas prolongaciones con forma ameboidea que permitían el avance hacia destinos óptimos para formar las estructuras maduras. Era pues el ATP un “anti-factor de crecimiento”. Era un estabilizador de estructuras que dejaban de ser dinámicas para aferrarse al destino en el cual la principal molécula energética dentro de la célula, el ATP, actuaba fuera de ella como agonista de receptores P2X7, indicando que si había ATP era un buen lugar para finalizar la búsqueda y formar sinapsis funcionales estables propias de los cerebros maduros. Este descubrimiento resultó no ser tan simple y poco a poco fuimos desvelando que la parte terminal del axón en crecimiento se parecía al paseo de Alfonso

X de Murcia un sábado por la tarde, donde se localizaba la gran pandilla de compañeros que organizaban la sinfonía presináptica para crecer ó no crecer, pues esa era la cuestión. Resultando de enorme trascendencia y repercusión ya que abría la puerta a la utilización de los antagonistas, o bloqueantes de todo tipo para obtener el efecto contrario, ser capaces de inducir el crecimiento del axón y ramificaciones.

Sin darnos cuenta, desde la ciencia básica habíamos entrado al corazón de los mecanismos más simples para regenerar y reorientar las terminales nerviosas y todo cuadraba con precisión milimétrica. Ahora que conocíamos lo que ocurre en el cono de crecimiento antes de formar parte de las sinapsis del cerebro maduro, teníamos la pregunta y la curiosidad de saber que ocurre en las terminales nerviosas, del cerebro lesionado o enfermo. Hay muchos tipos de lesiones en nuestro cerebro, una de ellas es la lesión del lóbulo temporal, que podemos mimetizar en animales y causar epilepsia. De este modelo aprendimos que a las neuronas no les gusta rendirse y cuando se ven comprometidas vuelven a sus etapas de desarrollo más tempranas. El hipocampo del lóbulo temporal lesionado, comenzaba a producir nuevas neuronas, a partir de células madre precursoras. No en vano esta zona es el lugar neurogénico más importante en el cerebro de mamíferos y por lo tanto del humano. Es el área responsable de nuestra memoria a largo plazo, y estas nuevas neuronas tenían abundantes receptor P2X7, que guiaban a los axones desde el giro dentado hacia las zonas más periféricas del hipocampo,

CA1, CA2, CA3, donde se ramificaban de modo preciso. Las reparaciones no siempre son exactas, incluso a veces el cerebro exagera en su afán de restaurar y esa sobreactuación que nos salvó de perecer, nos produce, si es excesiva, secuelas epilépticas. En este caso el P2X7 y sus antagonistas han resultado una excelente diana para el tratamiento de crisis epilépticas refractarias a la medicación clásica.

Ahora hay modelos más sofisticados con la ayuda de las células pluripotentes inducidas, por reprogramación celular, desarrolladas por el Premio Nobel Shinya Yamanaka. Gracias a su técnica se puede, sin necesidad de células embrionarias, acceder a la experimentación de las edades más tempranas del desarrollo del cerebro humano. Además, unida a la técnica de formación de “minibrains” en cultivo, el estudio del desarrollo del córtex cerebral temprano es posible. Este proceso de gran complejidad y dinamismo, puede sufrir alteraciones que dan lugar a malformaciones del desarrollo cortical. La lista es muy larga y solo citaré entre ellas la microcefalia y la lisencefalia. Nuestras primeras evidencias muestran la importancia de los receptores purinérgicos P2X y P2Y. Comprender cuál es su función en las primeras etapas del desarrollo, puede llevarnos a comprender como utilizarlos como diana en la reparación del cerebro dañado. No solamente el cerebro se ha beneficiado de estas tecnologías, pues la posibilidad de desarrollar órganos, como el riñón, para ser trasplantados, comienza a ser una realidad tangible. Sin duda gracias a la excepcional labor del profesor Ispizua Belmonte, Honoris Causa de esta Universidad.

Envejecimiento del cerebro: neurodegeneración y neuroprotección.

El incremento de la longevidad durante los últimos 100 años ha sido uno de los logros más importantes para la humanidad. Por este motivo la investigación sobre la biología del envejecimiento es una de las áreas prioritarias. La búsqueda de la eterna juventud es un viejo anhelo de la humanidad y aparece en todas las mitologías, casi siempre asociadas con fuentes de propiedades curativas, desde las historias de Heródoto, pasando por Alejandro Magno, la España musulmana y los conquistadores españoles, que la llevaron a América y se encontraron con que ya existía una historia similar, y Juan Ponce de León la busco sin éxito en Florida. Para nosotros el Balneario de Archena goza también de muy buena reputación. Pero nada más opuesto al sentido de la vida y la evolución a la que estamos sometidos que eternizarse sin dar posibilidades a nuestros descendientes de cambiar el mundo y hacer del planeta algo más humano. La única cuestión es que hay que educarlos en el conocimiento y la responsabilidad, entre el conocimiento y la sabiduría, que no siempre son equivalentes.

Dejando de lado el preámbulo, no se trata de alcanzar una edad muy avanzada, sino la más avanzada posible con buena salud. La primera pregunta para la geriatría es ¿Cuáles son los marcadores del envejecimiento, cómo reconocerlos? No podemos aceptar que los marcadores del envejecimiento sean los que provienen de las enfermedades degenerativas. Es necesario

pensar que cuando aparecen los síntomas de envejecimiento, los causantes del mismo sean mucho más tempranos y difíciles de identificar.

En las enfermedades neurodegenerativas, junto con mi grupo, hemos puesto de manifiesto la relevancia de la neurotransmisión purinérgica. La primera estudiada fue la enfermedad de Huntington, ya que es hereditaria monogénica y dominante, debido a la expansión del triplete que codifica la glutamina en el gen de la huntingtina. Realmente la verdadera razón, además de las ya citadas, era que podíamos contar con la ayuda de un gran experto el profesor José Javier Lucas Lozano, murciano de procedencia, que es profesor de Investigación en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa de Madrid. En esta enfermedad que cursa con la descoordinación del movimiento, la destrucción de las terminales sinápticas que van de la corteza motora a los núcleos del estriado, coincide con un incremento notorio del receptor P2X7, como si una vez lesionadas las motoneuronas hicieran todos los esfuerzos para volver a estadios tempranos y así regenerarse. El empleo de antagonistas de este receptor reducía los síntomas motores de la enfermedad, de nuevo era el exceso en la reparación lo que hace los síntomas más agresivos. La enfermedad de Alzheimer es lo opuesto a la de Huntington en cuanto a complejidad. Lo que conocemos como enfermedad de Alzheimer es de hecho un inmenso conglomerado con muy diversos orígenes y causas, cuyo nexo de unión es la pérdida de capacidad cognitiva. Un exiguo porcentaje de la enfermedad es estrictamente hereditario, supone tres genes, los de las

preselininas 1y 2 y el de la proteína precursora de amiloide APP. Anomalías en cualquiera de estos genes conducen al Alzheimer familiar temprano. Pero en estudios genómicos con muchos individuos diagnosticados (Meta-análisis) de Alzheimer aparecen una amplia variedad de genes posiblemente implicados y es ahí donde la alimentación, higiene, ejercicio, las interacciones sociales, infecciones previas e incluso el esfuerzo cognitivo y estudio constante tienen mucho que decir.

El depósito de placas de amiloide, requiere de la formación del péptido que se asocia en el medio extracelular y procede de la actividad de enzimas con actividad proteasa en la membrana plasmática, las α , β y γ secretasas. La actividad de las β y γ secretasas es la que origina el péptido amiloidogénico, A β 42 que genera los depósitos de amiloide. En la enfermedad de Alzheimer se produce un juego complejo entre receptores P2X7 y otros metabotrópicos, como el P2Y2 que influyen de modo opuesto en el procesamiento de la proteína precursora de amiloide, APP. La activación de los receptores P2X7 incrementan y los P2Y2 disminuyen la producción del péptido amiloidogénico A β 42. Por primera vez en ratones modificados genéticamente que reproducen la enfermedad de Alzheimer sobre expresando las proteínas mutadas de la proteína APP, las variantes Filadelfia y sueca, hemos conseguido «in vivo» reducir las placas de amiloide con antagonistas del receptor P2X7, al que hemos propuesto como diana preferente en el tratamiento de enfermedades neurales y neurodegenerativas en las que el funcionamiento sináptico se vea comprometido. El envejecimiento cerebral es algo normal y los modelos de enfermedades

neurodegenerativas, son un caso extremo del envejecimiento. La pregunta es ¿cómo envejece un cerebro sano? Y si ¿en situaciones de enfermedad, con fiebre e inflamación, o tratamientos agresivos con agentes oxidantes o genotóxicos, podemos protegerlo? En ensayos iniciales de neuroprotección, hemos podido constatar que muchos de los receptores metabotrópicos, P2Y, sobre todo el P2Y13, tienen poderosos efectos neuroprotectores, tanto sobre el estrés oxidativo, como el estrés genotóxico debido a la administración de agentes antitumorales. La neuroprotección implica restaurar las vías de señalización que llevan a supervivencia celular. Los estudios en animal entero con los primeros efectores alostéricos del receptor P2Y13 están en sus comienzos.

En el año 2013, López-Otín, uno de los científicos españoles de más prestigio, definió el envejecimiento como el proceso por el cual las células alteran funciones bioquímicas y genéticas a través de factores intrínsecos y extrínsecos a las propias células. Uno de los principales objetivos de la medicina regenerativa es evitar los efectos no bien definidos de la edad y explorar las posibilidades que ofrecen las células madre. En el cerebro de los mamíferos adultos las zonas neurogénicas fueron primero identificadas en el ventrículo lateral de la zona subependimal (SEZ) y en la zona granular del giro dentado (SZG) del hipocampo. Es esta última zona la más relevante en los humanos. Trabajos del profesor Herbert Zimmermann demostraron que la diferenciación de los linajes neurales requería una expresión de receptores

purinérgicos y ecto-nucleotidasas, los enzimas que hidrolizan los nucleótidos, que dependía del tiempo de expresión de los genes capaces de inducir la diferenciación. Los estudios de la reparación en los procesos de epilepsia experimental ya indicaban que la señalización purinérgica era necesaria para generar nuevas neuronas en el hipocampo.

¿Pero qué ocurre en ausencia de lesión? ¿Mantienen las zonas neurogénicas la capacidad de dividir estas células precursoras y diferenciarlas? ¿Se mantienen los nichos neurogénicos durante toda la vida del individuo? Es necesario tener en cuenta que las células madre precursoras, las células progenitoras, juegan a dos bandas; la primera que se dividan asimétricamente, originando una célula hija idéntica capaz de mantener su propio linaje de células progenitoras y otra capaz de diferenciarse y reparar los daños. La segunda es que con la edad disminuye esta división asimétrica y los tejidos pierden la capacidad de auto renovarse.

Tampoco conviene olvidar que los nichos neurogénicos del cerebro se asocian con zonas altamente vascularizadas y se ha postulado que cuando el animal es joven al dividirse las células el ADN todavía no ha acumulado muchos errores y sus telómeros son de suficiente longitud. Ambos aspectos son intrínsecos a las células madre y solo dependen del número de divisiones o errores de replicación (cambio de una base por otra cada 100 millones de bases en el ADN parental). No obstante su asociación con zonas vascularizadas ha llevado a la búsqueda de los factores externos, extrínsecos a la célula,

que mediante receptores específicos sean capaces de potenciar la división asimétrica de las células progenitoras.

En el cerebro existen nuevas oportunidades terapéuticas para el tratamiento del envejecimiento y de las enfermedades neurodegenerativas utilizando el potencial de las células neurales progenitoras (NSC). Un hecho esperanzador es que estas células se encuentran ampliamente distribuidas a través el parénquima cerebral, también conocidas con el nombre de células precursoras de oligodendrocitos (OPC). Estas células (OPC) expresan un nuevo receptor purinérgico el GPR17, anteriormente un receptor huérfano que es un receptor dual activado de modo conjunto por los nucleótidos de uracilo y los cisteinilleucotrienos, parientes próximos de las prostaglandinas. Fue recientemente caracterizado por el grupo de la Dra. Abbracchio, demostrando que induce la maduración de los precursores de oligodendrocitos y en situaciones inflamatorias está siempre incrementado llevando a una maduración anómala. La hipótesis de que la atenuación de este receptor podría servir para que el proceso de mielinización se efectuara de forma más fisiológica ha llevado a la búsqueda de antagonistas del mismo. Sorprendentemente en la búsqueda, el compuesto Montelukast, anteriormente utilizado para prevenir la dificultad respiratoria y el tratamiento del asma, que ya era conocido por su acción sobre los receptores de leucotrienos (LTRA), ha resultado ser un compuesto muy eficaz para reducir la actividad del receptor GPR17. En ensayos en animales ha demostrado su eficacia para mantener los precursor-

res de oligodendrocitos, la remielinización de axones centrales, importante en la esclerosis múltiple y la protección de las terminales sinápticas evitando su necrosis, con efectos claros en modelos de parkinson. Está en fase de estudio su aplicación en humanos. No cabe mejor mensaje.

Consideraciones finales.

He finalizado el apartado anterior con un mensaje de esperanza. El área de la neurotransmisión purinérgica participa del dinamismo que impregna el campo de ciencias de la vida y la salud y del que nosotros participamos disfrutando con avidez de cada cosa nueva. Sin duda, son muchos los aspectos que ignoramos y quizás la euforia del descubrimiento deba de ser matizada. Muchos otros investigadores de ciencias de la vida han pasado por las mismas sensaciones, pero hay que ser precavidos y como docentes esta inquietud ha quedado reflejada en la frase atribuida a un Decano de la Facultad de Medicina de Harvard, al parecer en los inicios del siglo XX:

«Half of everything we teach you is wrong... unfortunately, we don't know which half.» (La mitad de lo que os hemos enseñado es falso, pero por desgracia no sabemos de qué mitad se trata).

Al parecer la frase tiene una larga historia, incluidos hombres de negocios y científicos, y ha sido atribuida a otros muchos pensadores. Incluso el Papa Juan XXIII, cuando los periodistas le preguntaron cuántos empleados trabajaban en el Vaticano respondió: Poco más o menos la mitad.

Ciertamente no faltarán sorpresas a todo aquel que se dedique a la ciencia. En el largo camino recorrido me han tocado desiertos donde no se veía el fin y hermosas montañas que al escalarlas me han dado una visión del horizonte, el camino en ciencia es siempre necesario hacerlo acompañado, siendo la tenacidad indispensable y la inteligencia el guía. Ahora que seguimos sumergidos en tiempos difíciles, es necesario pensar que la ciencia es un organismo vivo, que no se puede arrancar de raíz, se puede podar con mimo sin lesionar el tronco poderoso. La ciencia crece en nuestras neuronas y es fruto de nuestras sinapsis, que envejecen y que solamente pueden ser sustituidas por las de otros cerebros jóvenes, intactos, fértiles, inteligentes, creativos y libres. Si no hay renovación no habrá ciencia, ni riqueza, ni justicia, ni mundo cultural y creativo, esa es la ley eterna de la vida.

Muchas gracias por el inmenso honor que me hacen al recibirme en su universidad.

Muchas gracias por su atención.

Discurso de M^a Teresa Miras Portugal

Murcia 11 de Octubre de 2016.



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA