



PUBLICACIONES INSTITUCIONALES

**Investigar:
la pasión
de cada día**

RICARDO BORGES JURADO



SERIE LECCIONES INAUGURALES / 25

Investigar:
la pasión de cada día

Investigar: la pasión de cada día

LECCIÓN INAUGURAL
DEL CURSO ACADÉMICO 2022-2023

Pronunciada por
Dr. don RICARDO BORGES JURADO
Catedrático de Farmacología

26 de septiembre, 2022

SERVICIO DE PUBLICACIONES
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA, 2022

Colección:
PUBLICACIONES INSTITUCIONALES

Serie:
LECCIONES INAUGURALES/25

Edita:
Servicio de Publicaciones
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Campus Central
38200 La Laguna. Santa Cruz de Tenerife
Teléfono: +34 922 319 198

Diseño editorial:
Jaime H. Vera.
Javier Torres. Cristóbal Ruiz.

1.^a edición: 2022
*Prohibida la reproducción total o parcial
de esta obra sin permiso del editor*

Preimpresión:
SERVICIO DE PUBLICACIONES

Impresión:
GRAFIEXPRESS

Depósito Legal: TF 477/2022

Excelentísimo Sr. presidente del Gobierno de Canarias,
excelentísima señora rectora magnífica de la Universidad de La
Laguna,
Excmas. e Ilmas. autoridades,
miembros de la comunidad universitaria,
compañeras y compañeros, amigos y amigas claustrales,
señoras y señores:

Cada mañana acudo al laboratorio de Farmacología de la Facultad de Medicina (perdónenme que hoy no me refiera a ella como de «Ciencias de la Salud»), es algo que podría ostentar todos los tintes de la cotidianidad, pero jamás de la rutina. La diferencia entre ambas, cotidianidad y rutina, la marca un simple término: pasión.

A la pasión, a la pasión por investigar, por descubrir algo nuevo, quiero dedicarle estos minutos. Es quizá la pasión la guía y motivación de artistas, de pensadores y también de científicos. Por ello científicos, pensadores y artistas somos así: pasionales. Ya les digo que no debe ser fácil convivir con un ser pasional.

Cuando inicié mis estudios de Medicina, allá por 1976, era un muchacho de 17 años con muchas inquietudes, pero fue la ciencia la que me hizo pasional. La Universidad nos imbuye conocimientos que se han ido fundamentando en el trabajo de cuantos nos han antecedido. Este es un centro de estudios; aquí se aprende y se enseña en esa interminable labor de trasvase de maestros a discípulos, de profesores a estudiantes. Una labor que lleva acompañando a la humanidad desde antes de que la civilización existiera. Hay, sin embargo, una faceta que no se aprende de otras personas sino de la naturaleza de las cosas, del descubrimiento científico, de la observación y del cotejo experimental y esa, esa es la pasión que, a mí como a tantos otros, nos motiva a subir las escaleras del Departamento cada mañana, una actividad cotidiana nada rutinaria.

Por mi propia ignorancia y por respeto, no me es posible referirme a la investigación que ocupa a otras áreas del conocimiento, solo conozco aquello en lo que me muevo.

Si hay una ciencia cambiante y en continua reescritura esa es la Medicina y todo lo que a su alrededor gira. Nuestros libros y revistas se quedan anticuados con inusitada rapidez y los conceptos que creíamos bien establecidos están en continua revisión. Eso dota a la investigación de un atractivo enorme: todo está reescribiéndose. La neuroquímica, la biología, la fisiología, la bioquímica, mi farmacología y la instrumentación que viene a ayudarnos a avanzar la frontera hacia lo desconocido nos llevan constantemente a nuevas preguntas, y a cada respuesta (casi siempre parcial) le salen nuevas y nuevas cuestiones. ¿No les parece apasionante?

Pocas cosas resultan más creativas que hacerle preguntas a la naturaleza.

APRENDE DE TUS ERRORES

Robert Furchgott era ya un reputadísimo científico cuando se retiró de la Universidad de Nueva York en 1988. Unos pocos años antes, en su laboratorio estaban realizando un experimento con arterias aortas de rata. El diseño era muy simple y este experimento lo habían repetido muchas veces con idénticos resultados, solo que esta vez algo falló.

La nueva ayudante del laboratorio había sumergido una tira de arteria en un baño de órganos (panel a). En esta solución fisiológica puede estudiarse la respuesta contráctil a fármacos. Es lo que los farmacólogos

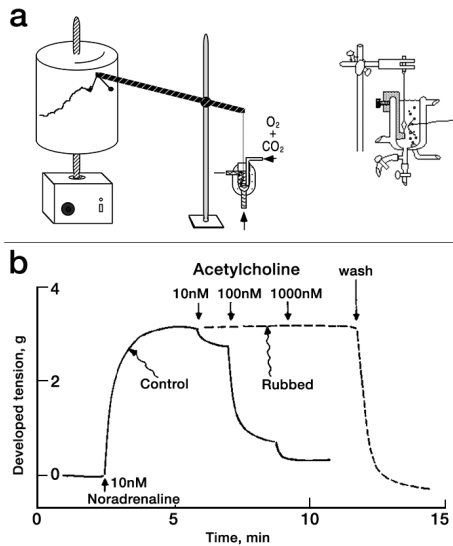


Figura 1.

denominamos un «baño de órganos». La prueba consistía en contraer la arteria con noradrenalina y observar el efecto de concentraciones crecientes de acetilcolina. Lo que debía observarse era lo que nos muestra la línea continua del registro b, es decir, la acetilcolina tiene que relajar la arteria. Sin embargo, no observaron cambio alguno (línea punteada) (ver figura 1).

Furchgott intentó descubrir por qué a ella «le salía mal». Observó que su ayudante limpiaba cuidadosamente la tira sobre un papel de filtro, y eso hacía que las células del endotelio (esos «azulejos» que recubren los vasos sanguíneos por dentro) se quedasen pegadas al papel dejando al músculo «desnudo». Cualquier otro investigador hubiera reaccionado con una reprimenda a la ayudante, pero Bob Furchgott no era ese cualquiera. Así que utilizó el error para extraer sus propias conclusiones:

- 1- Las células musculares lisas de los vasos no tienen receptores para la acetilcolina.
- 2- La acetilcolina necesita del endotelio para dilatar los vasos.

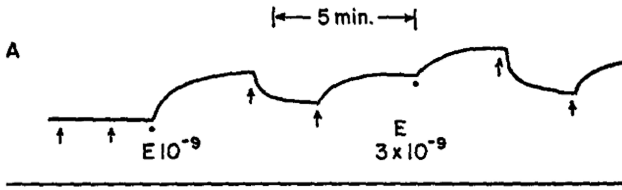


Figura 2.

3- El endotelio tiene que enviar una «señal» al músculo. Esa señal desconocida se denominó (1987) *Endothelium-Relaxing-Factor* o EDRF.

Furchgott siguió trabajando en el laboratorio y recordó otro «error cometido por un ayudante» mucho tiempo antes, en los años 50 (ver figura 2).

Era verano y el sol penetraba por las ventanas de aquel laboratorio de Brooklyn (Nueva York). El técnico contrajo las arterias con adrenalina (E), pero notó que al acercarse se relajaban. Furchgott lo atribuyó a la luz (pese a las carcajadas del público), publicó los resultados y estos cayeron rápidamente en el olvido. Ahora, treinta años después, recordó que aquel efecto de la «sombra» se parecía mucho al de la acetilcolina. Concluyó que:

- 1- La sustancia EDRF era muy lábil y era destruida por la luz. La sombra reducía su degradación y la dejaba actuar.
- 2- La sustancia debía ser de vida efímera para que su efecto se revirtiera tan rápido, probablemente un gas.

La sustancia se identificó poco después como óxido nítrico (NO), un gas cuya efímera existencia solo perdura unos 5 segundos. La ruta de síntesis del NO fue descrita por Salvador Moncada. Enseguida se supo que los nitratos orgánicos, como la nitroglicerina, son en realidad donadores de NO. Robert Furchgott, Ferid Murad y Louis Ignarro compartieron el Premio Nobel de Medicina o Fisiología en 1998.

Yo lo conocí allá por 1986, poco después de defender mi tesis en la Universidad de Alicante.

«Ricardo, aprende de tus errores». Entonces supe lo que era la pasión.

EL MOMENTO EUREKA

En la vida de un investigador son pocos los momentos «Eureka», pero solo por ello vale la pena dedicarse a esto. He tenido la inmensa suerte de experimentarlo cuatro o cinco veces en mi vida. Es algo que te hace salir al pasillo y ponerte a gritar. Solo que la mayor parte de las veces no queda nadie en ese pasillo para oírte y menos para saber escucharte.

Durante ocho largos años estuve solo en el laboratorio. Hacía los experimentos solo, analizaba los datos solo y los publiqué varias veces de igual manera. En esos años no había móviles ni Internet, casi no teníamos teléfono. Había que llamar a la telefonista de la Universidad y pedir línea para, emocionado, llamar a mi mentor Antonio García (doctor *honoris causa* por la ULL) y hacerle partícipe de mi momento. De él supe que tampoco mi situación era tan original. Cito aquí unas líneas extraídas de su discurso de ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina en 2017:

«La Academia Nacional de las Ciencias de los Estados Unidos de América difundió hace un tiempo un opúsculo dirigido a los jóvenes que emprendían una carrera investigadora. Para ilustrar las emociones inherentes al descubrimiento científico narraba una historia relacionada con la conjugación entre paramecios:

Corría el año 1937 cuando, en su laboratorio en la estadounidense Universidad John Hopkins, el joven Tracy Sonneborn buscaba las condiciones para que dos tipos de paramecios formaran una especie de puente por el que pudiesen intercambiar material genético. Durante varios meses, Tracy había estado mezclando varias parejas de paramecios utilizando los más variados medios de incubación, sin resultado alguno. Tras una jornada de trabajo agotador y, cuando a altas horas de la noche se disponía a irse a casa, mezcló una última pareja de paramecios que comenzaron a unirse y a formar agregados. Presa de una excitación rayana en el delirio buscó por los desiertos laboratorios a algún colega para compartir con él tamaño acontecimiento. No encontró a nadie. Corrió al vestíbulo del edificio y arrastró al vigilante hasta el microscopio para que observara la espectacular reacción. Es probable que el vigilante creyera que el joven biólogo estaba sufriendo un ataque de locura y que no entendiese la importancia del experimento de Tracy Sonnenborn, que abriría la puerta al estudio de la genética en organismos unicelulares».

En sentido parecido se expresaba Severo Ochoa con un descubrimiento relacionado con la oxidación del NADPH, una coenzima

involucrada en multitud de reacciones fisiológicas que abarca desde el metabolismo de los azúcares a la fotosíntesis.

Pocas veces he sentido una emoción en vida igual a aquella que se produjo al ver la aguja del espectrofotómetro moverse en la dirección que yo esperaba (indicando la oxidación del NADPH) cuando añadí una gota de solución de bicarbonato conteniendo CO_2 a una mezcla de deshidrogenasa isocítrica, alfa cetoglutarato, NADPH e iones manganeso. Recuerdo que salí del pequeño cuarto en el que estaba el espectrofotómetro, gritando: venid, venid a ver esto. Mi entusiasmo me había hecho olvidar que eran las nueve de la noche y que en el laboratorio no quedaba nadie.

MI MOMENTO EUREKA

Aprovechando este momento y este micrófono he querido compartir con ustedes mi último momento Eureka.

Comencé hace treinta y cinco años a estudiar la liberación de neurotransmisores utilizando células cromafines de la médula suprarrenal. Estas células liberan adrenalina al torrente sanguíneo en respuesta a situaciones de estrés.

La adrenalina se almacena en vesículas secretoras que son, en la práctica, los únicos lugares donde un compuesto tan lábil puede preservarse de la degradación. También es la forma que le permite a la célula cromafín (y a la neurona) liberar al neurotransmisor en forma de paquetes, es lo que llamamos la liberación cuántica. La concentración de adrenalina en la vesícula es fascinantemente enorme, nosotros la medimos directamente y alcanza 1 molar. Por fuera de la vesícula la concentración es de alrededor de 10 micromolar, es decir, cien mil veces menos. Traten de imaginárselo, la simple membrana de una vesícula mantiene esa diferencia a ambos lados, probablemente el mayor gradiente de concentración observable en biología. Para conseguirlo la vesícula utiliza una serie de proteínas que bombean adrenalina hacia su interior. Si esos mecanismos de concentración fallan tendríamos dos consecuencias:

- menor concentración de neurotransmisor listo para liberarse y
- mayor concentración de adrenalina donde no debe estar: en el citoplasma de la neurona.

La adrenalina es una catecolamina, pariente cercana de la nora-drenalina (el neurotransmisor que nos sube la tensión) y de la dopamina (que regula buena parte de nuestros movimientos). También pariente, algo más lejana, de la serotonina (ahora de moda por ser la hormona de «la felicidad») y de la histamina (que tanto nos fastidia durante los episodios de alergia). Todas ellas se denominan «aminas biógenas». Además del nombre, estas aminas comparten los mecanismos de concentración en las vesículas secretoras: esos que cuando fallan...

La enfermedad de Parkinson es de todos conocida, abarca a un 1-2% de la población y este porcentaje sigue subiendo. Temblor, rigidez y movimientos anormales: todos tenemos a un familiar o a un conocido paciente de párkinson. Enfermedad de origen desconocido y sin tratamiento más allá del sintomático.

Hace algunos años Arvid Carlsson descubrió que muchas de las neuronas dopaminérgicas (las que utilizan a la dopamina como neurotransmisor) estaban dañadas o muertas en los enfermos de párkinson. Carlsson demostró que la afección involucraba a un reducido número de neuronas, todas dopaminérgicas, y que esta afectación se incrementaba a medida que la enfermedad avanzaba. Fue el correlato bioquímico que permitió instaurar el tratamiento más eficaz para el tratamiento de los síntomas utilizando el precursor bioquímico de la dopamina: la Levodopa. En el año 2000 se le concedió el Premio Nobel de Medicina.

Sin embargo, el cerebro es capaz de irse adaptando a su pérdida y solo cuando el 70-80% de las neuronas han muerto comienzan los síntomas clínicos y la enfermedad se diagnostica. En otras palabras, muchas de las personas hoy asintomáticas, y por estadística varias de las hoy presentes en esta sala, padecen esta enfermedad (ver figura 3).

Una de las teorías que intentan explicar el origen del párkinson y de muchos de sus síntomas no motores (depresión, hipotensión ortostática, problemas de sueño, problemas digestivos...) se basa en la toxicidad de la dopamina cuando esta se encuentra libre en el citoplasma de la neurona. La dopamina se oxida rápidamente, y esto ocurre tanto de forma espontánea (incluso en el tubo de ensayo) como por oxidación fisiológica en las mitocondrias. Al oxidarse da origen a compuestos muy reactivos y tóxicos denominados así: especies reactivas de oxígeno, y a un metabolito que agrega a la alfa-sinucleína, una proteína involucrada en la génesis del párkinson. Lo de menos ahora es que recuerden los nombres, solo un concepto: la dopamina no puede estar libre en el citosol,

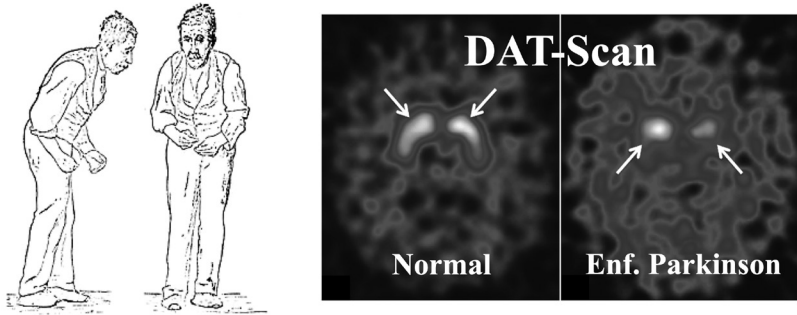


Figura 3.

ha de estar confinada en las vesículas secretoras. Ahora retornamos a la vesícula secretora.

Les comentaba que todas las aminas biógenas parecen compartir los mecanismos de acumulación en las vesículas secretoras. En la figura les muestro una ilustración de tres vesículas secretoras correspondientes a una célula cromafín, a una neurona dopaminérgica y a un gránulo denso de plaquetas, que respectivamente almacenan noradrenalina, dopamina o serotonina (ver figura 4).

Como es difícil convencer a alguien para se deje abrir el cráneo a fin de estudiar sus neuronas, o permitir que le extirpemos las glándulas suprarrenales para extraerle sus cromafines, buscamos otras alternativas más accesibles con las que comprobar el estado de salud de sus vesículas secretoras. Así llegamos a las plaquetas.

Sabemos que las plaquetas son fragmentos de células que viajan con la sangre y que se ocupan, entre otras cosas, de evitar el sangrado. Las plaquetas poseen vesículas secretoras que almacenan serotonina (aquella prima lejana de la dopamina y con la que comparte los mismos mecanismos de concentración).

La hipótesis que nos planteamos fue esta: si un fallo en los mecanismos de concentración en las vesículas está tras el origen de la enfermedad de Parkinson, estos también podrían estar alterados en las plaquetas, y ese fue mi momento Eureka (ver figura 5).

Bastan 4 mililitros de sangre para que mis colaboradores (Pablo Montenegro y Alicia Méndez) puedan purificar plaquetas para hacer los

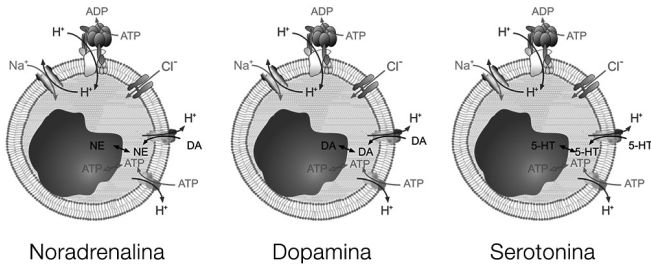


Figura 4.

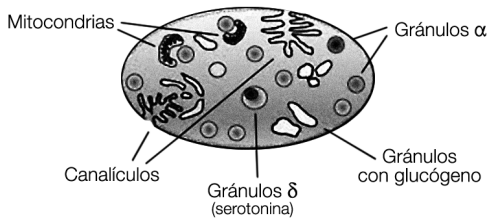


Figura 5.

estudios y basta ser muy convincente para que mis colegas neurólogos (Mercedes Pueyo, Jesús Norelis Lorenzo, Antonio Alayón y María Dolores Villar) nos facilitasen el acceso a muestras de sangre de pacientes de párkinson y a voluntarios sanos.

Utilizamos una técnica de cromatografía líquida para medir la concentración de serotonina en plaquetas. Desde el principio los datos fueron confirmando la hipótesis: los enfermos de párkinson tienen un defecto cuantificable importante en sus mecanismos de captación de aminas biógenas.

En la figura 6 les muestro dos análisis. El trazo negro corresponde a un sujeto sano (CTR) y el gris a un enfermo de párkinson. El primer pico es isoproterenol (ISO), una sustancia añadida a las muestras en una cantidad conocida y que utilizamos para comprobar que ambos registros son comparables y para cuantificar la serotonina (5-HT).

Análisis de serotonina en plaquetas

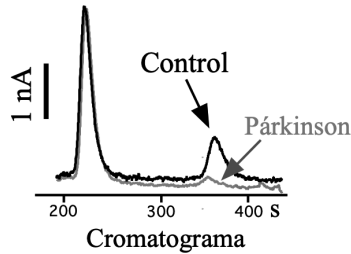


Figura 6.

Nuestra prueba de la serotonina alcanza ahora una certeza cercana al 91%, muy por encima de cualquier otro método diagnóstico disponible. Pero hay más, este «test» parece distinguir al párkinson de otros cuadros de parkinsonismo como el temblor esencial, es lo que conocemos en medicina como diagnóstico diferencial.

De estas observaciones salen dos apasionantes nuevas derivadas:

- 1- Si estos mecanismos están afectados en plaquetas, probablemente no son una consecuencia sino la causa de la enfermedad: en otras palabras, estarán afectadas años o décadas antes de que aparezcan los primeros síntomas y podríamos detectar párkinson subclínico, quizás en alguno de los hoy aquí presentes. En estos últimos meses estamos incrementando el número de pacientes y sujetos control, especialmente incidiendo en miembros de familias con varios casos de párkinson.
- 2- Si tenemos una herramienta de laboratorio como la prueba de la serotonina en plaquetas, ello nos permite trabajar directamente con muestras de pacientes y podemos utilizarla para buscar fármacos. Ahora les recuerdo que soy farmacólogo. Hemos comenzado el cribado de fármacos en busca de alguno capaz de incrementar la capacidad de carga de las vesículas secretoras. Si un fármaco es capaz de corregir el defecto (y ya tenemos algún candidato), estaríamos ante un agente capaz de modificar el curso de la enfermedad y no limitarse a aliviar los síntomas.

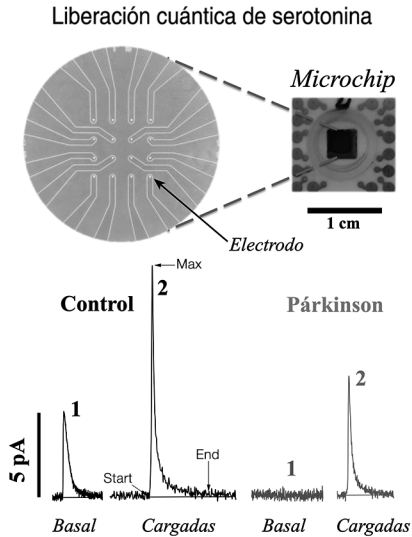


Figura 7.

HACIA DÓNDE NOS LLEVA LA PASIÓN: SIEMPRE A INNOVAR

Mi colega y antiguo doctorando David Machado me define como un médico metido a ingeniero. Desde la frustración de no poder serlo, he tenido la inmensa suerte de contar con amigos que sí lo son, unos en esta Universidad de La Laguna, otros en Alemania y en Italia. También con excelentes técnicos en electrónica y en computación. Con ellos estamos desarrollando un nuevo método diagnóstico basado, no ya en el contenido de serotonina de las plaquetas, sino directamente analizando su liberación cuántica. Esta idea, desarrollada por mi amigo Alberto Pasquarelli en la Universidad de Ulm (Alemania), la hemos adaptado con éxito a nuestros estudios en humanos.

En la figura 7 les muestro uno de estos «chips» que nos permiten detectar la liberación de una sola vesícula secretora. Esta liberación cuántica se realiza de forma semiautomática y ya está dando unos resultados fascinantes. En la parte superior les muestro uno de estos chips de 16 electrodos. La flecha muestra una imagen ampliada donde la flecha les

indica dónde está la superficie «activa» del electrodo. Los trazos de la parte inferior corresponden a la liberación medida. Las «espigas» corresponden a la media de varios cientos de ellas obtenidas de plaquetas de sujetos control (trazos en negro) y de enfermos de párkinson (trazos en gris). Los trazos señalados con un 1 se obtuvieron de plaquetas sin cargar y las señaladas con un 2 de plaquetas que habían sido cargadas con serotonina. Como se ve, las plaquetas de pacientes con párkinson no presentan secreción cuántica (o son tan pequeñas que no las podemos detectar).

Este es un nuevo método que hemos patentado y que podría incorporarse a los laboratorios clínicos de nuestros hospitales como herramienta diagnóstica.

CONTANDO ESCALONES

Ahora quizás puedan entender por qué subo las escaleras cada mañana camino del cromatógrafo líquido para mirar los resultados que las máquinas han estado analizando durante la noche. El ansia por conocer si Rosalía González-Brito ha conseguido obtener buenos registros de la liberación cuántica de las plaquetas. Esperar la llamada de Vanesa Luis de la Oficina de Transferencia para ver si nos han concedido una patente o ha logrado contactar con algún posible inversor. Miro con avidez el correo electrónico de colegas que se interesan por lo que hacemos y las publicaciones científicas que comienzan a dar crédito a nuestros descubrimientos.

Mañana será otro día, otro día en el que muchos científicos apasionados vuelvan a subir escaleras esperando la llegada de otro momento Eureka. Y yo también.

Muchas gracias.



Servicio de Publicaciones
Universidad de La Laguna