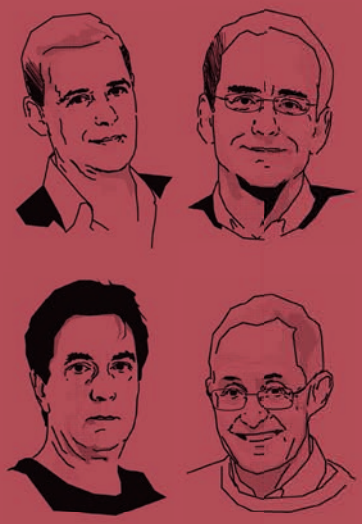
FUNDACIÓN BOTÍN.

28 HISTORIAS DE CIENCIA E INNOVACIÓN BIOMÉDICA EN ESPAÑA



FUNDACIÓN BOTÍN.

28 historias de ciencia e innovación biomédica en españa

FUNDACIÓN BOTÍN.

28 HISTORIAS DE CIENCIA E INNOVACIÓN BIOMÉDICA EN ESPAÑA

La Ciencia es, sin duda, uno de los vectores clave para la generación de riqueza y desarrollo social en nuestro país.

Por eso, la Fundación Botín ha tenido siempre a la Ciencia como una de sus apuestas fundamentales. Y, más concretamente, la trasferencia de tecnología. Porque tenemos frente a nosotros la oportunidad y el reto de transformar un magnífico nivel de producción científica –muy especialmente en el ámbito de la biotecnología– en riqueza económica y social.

Y esto es precisamente lo que la Fundación Botín lleva más de 10 años haciendo a través de su programa de transferencia tecnológica: trabajar mano a mano con algunos de nuestros mejores científicos para juntos lograr convertir sus descubrimientos en desarrollo y empleo.

Este libro recoge las historias de los investigadores que han trabajado con la Fundación durante estos años. Narraciones que, vistas en conjunto, ayudan a entender la historia reciente de la ciencia española; porque condensan las esperanzas y ambiciones, el entusiasmo, los éxitos y las decepciones de algunas de las personas que más han contribuido, de una forma decisiva, al protagonismo internacional que ha logrado alcanzar nuestra biomedicina.

A todos ellos, a sus equipos y a las instituciones en las que trabajan, quiero desde aquí agradecerles su compromiso con el conocimiento y el desarrollo de nuestro país, así como la generosidad y confianza que supone que nos hayan dejado acompañarles en el proceso, siempre complejo, de repensar su forma de hacer ciencia para lograr transformarla en riqueza y bienestar. Porque ello está sirviendo, además, para que la sociedad española descubra y reconozca que sus científicos son uno de sus principales activos.

No puedo terminar sin dejar de recordar a Emilio Botín, Presidente de esta Fundación desde 1993 hasta 2014. Su impulso personal, fundamentado en la admiración y el respeto a nuestros científicos, ha sido una de las principales claves del éxito de este programa de transferencia que en estos años ha evaluado más de 300 ideas que han derivado en 47 patentes, 27 acuerdos de licencia y 4 nuevas empresas, y que ha contribuido al empleo directo y la capacitación de 447 jóvenes investigadores y técnicos en laboratorio.

Pero estos 10 años no son más que el principio. La apuesta por la ciencia tiene que ser, necesariamente, una apuesta a largo plazo, y por eso la Fundación Botín seguirá haciendo su máximo esfuerzo por continuar esta labor, explorando formas nuevas de convertir el talento científico en desarrollo social.

Javier Botín
Presidente de la Fundación Botín

ANTECEDENTES

Reseña de una ambiciosa idea 8
Pedro R. García Barreno

Evaluación del Programa de Ciencia de la Fundación Botín (2005-2014) 19
Francisco Moreno / Pedro R. García Barreno

BIOGRAFÍAS

1. José Luis Jorcano Noval 30
El camino largo y sinuoso / The Beatles
2. Juan A. Bueren 44
Células madre: ¡regreso al futuro!
3. Mariano Esteban Rodríguez 56
Un científico de Tierra de Campos
4. Eugenio Santos 74
Un viaje científico de ida y vuelta: Salamanca-Nutley-Bethesda-Salamanca
5. Carlos Belmonte 88
Mirando hacia atrás sin ira
6. Jesus Ávila 106
Mi relación con la Fundación Botín
7. Joan Guinovart 116
Emulación de Habacuc
8. Carlos López Otín 132
La vida y la enfermedad en la era genómica
9. María Teresa Miras Portugal 146
Notas biográficas de una superviviente
10. José López Barneo 166
Recuerdos y reflexiones sobre mi vida científica
11. Laura M. Lechuga Gómez 186
Diagnosticar con luz: objetivo de una vida
12. Manuel Serrano 202
El descubrimiento de p16 y su importancia en la medicina
13. Luis Serrano 224
Cambiando, siempre cambiando
14. Juan Valcárcel 234
Atando cabos
15. Modesto Orozco 248
La imperceptible certeza de la duda

16. Ángel Carracedo 266
Pescando genes de aquí para allá
17. Francesc Posas 278
Una mirada al pasado con vistas al futuro
18. Manel Esteller 292
Un viaje personal por mi epigenética
19. Juan Ortín 304
Mi camino desde la química a la virología
20. María Domínguez 318
Mi vida como una científica (de moscas)
21. Josep Samitier 328
Memorias
22. María A. Blasco 340
Los telómeros y el origen de la enfermedad
23. Ricard Solé 354
Apuntes autobiográficos entre el orden y el caos
24. Gustavo Guinea 372
Aprendiz de todo, maestro de nada
25. Eduard Batlle 386
Explorando la frontera entre las células madre y el cáncer
26. Raúl Méndez 400
Descodifiacando al traductor
27. Óscar Fernández-Capetillo 412
Peleando contra el cáncer y el envejecimiento
28. Isabel Fariñas 426
Mi viaje personal por la neurociencia

GLOSARIO 438

Reseña de una ambiciosa idea

El Programa de Ciencia de la Fundación Botín

Pedro R. García Barreno
Coordinador del Programa de Ciencia

Don Emilo Botín,
in memoriam

La prosperidad de una nación, el bienestar de sus ciudadanos y sus perspectivas de futuro residen en la fortaleza de su sistema educativo, la solidez de sus estructuras democráticas y en la vitalidad de su iniciativa científico-tecnológica. En nuestro tiempo, el entramado ciencia-tecnología afecta a cualquier aspecto de la política, desde la seguridad nacional hasta el bienestar ciudadano.

Sin embargo, a pesar de la voluntad de la Academia para aplicar sus resultados, existen dificultades reales a la hora de analizar su potencial, la propiedad intelectual o los conflictos de intereses, tanto financieros como de derechos. También, en cuanto que los productos negociados por las instituciones académicas estén disponibles en términos razonables de diferente índole y, sobre todo, el desarrollo de las autopistas de valorización, no debe interferir con el fundamento académico del cultivo de conocimiento innovador.

En este contexto, es necesario elaborar una hoja de ruta que incluya la estrategia para conseguir una serie de objetivos y en la que prime la colaboración entre los distintos actores, públicos y privados, del sistema en ciencia y tecnología, en un país que no tiene la I+D entre sus prioridades. Universidades, organismos públicos de investigación (OPI), parques científico-tecnológicos, entidades financieras e inversores son la base de la innovación, pero para ello es fundamental que el legislador facilite el entendimiento enfocado hacia la cooperación para que España crezca y sea competitiva. La falta de comunicación es un desafío y, a la vez, una excelente oportunidad que afronta el contexto del sistema de transferencia español. Los poderes Ejecutivo y Legislativo deben elaborar un marco administrativo coherente, tal vez una agencia única que elimine una agobiante e ineficaz burocracia, el exceso de ventanillas, la carencia de control o la ausencia de homogeneización de procedimientos.

El esfuerzo en ciencia y tecnología es rentable por la repercusión social de sus resultados, porque es un motor de desarrollo y, también, por el prestigio del país. Hoy en día disponemos de una profusión de diagnósticos, pactos, notificaciones o informes sobre la situación, pero carecemos de iniciativas prácticas para solucionarla.

Varios autores han aconsejado no hacer predicciones. Aun así, existen analogías entre la física y la biología en el ya rodado, para lo bueno y para lo malo, siglo XX. La física aportó dos cosas al siglo pasado: poder sobre la naturaleza y, a través de la tecnología, diferentes desarrollos. Aunque es demasiado pronto para asegurar si la biología será el hecho distintivo del siglo XXI, hay numerosos indicadores en este sentido. Muchos de los grandes problemas a los que se enfrenta la humanidad son biológicos o susceptibles de intervención biológica. En cualquier caso, la investigación salva vidas, ahorra recursos y genera riqueza.

Todo empezó con una carta, la invitación para participar en el ciclo de conferencias «La Tercera Cultura», organizado por la Fundación Botín. Firmaba la misiva doña Esperanza Botella Pombo, subdirectora de la Fundación. ¿Qué ha sucedido en estos veinte años?

Pues que la charla titulada «Entre la esperanza y el temor. Investigaciones recientes en Biomedicina» se desarrolló en el salón de actos de la sede fundacional, en Pedrueca, ya bien entrada la tarde del 31 de enero de 1995. Luego hubo cena con doña Esperanza y don Enrique Martínez Berro, director gerente de la Fundación (había sido nombrado en enero de 1989). La sobremesa se prolongó hasta más allá de la medianoche. Después, silencio. Tal vez a la vuelta del verano de aquel año, una escapada a Santander para mantener una conversación con ambos comensales. Vuelta a Madrid. No volví a tener noticias hasta pasado un año, cuando recibí una llamada telefónica de doña Esperanza para proponer una comida en Madrid. Se celebró en el restaurante Lur Maytea, el 12 de septiembre de 1996. Los mismos comensales. Tras el postre, don Enrique comentó que había llegado el momento de hacer algunos cambios en el planteamiento general de la Fundación, para lo que el patronato había decidido crear dos áreas de actuación (Humanidades y Ciencia) y expandir la presencia de la Fundación más allá de Cantabria. Tras aquella introducción vino la oferta y mi aceptación de la dirección del Área de Ciencia.

A partir de aquello, las visitas a Santander fueron frecuentes. En la primavera del siguiente año se produjo el primer y esperado encuentro con don Emilio —baste este comentario sobre una relación ahora añorada—. El acta de la reunión del patronato, con fecha de 20 de junio de 1997, recoge el «nombramiento como miembro del Comité Científico de la Fundación Botín de Pedro García Barreno», que junto a José María de Prada, notario, y Francisco Jarauta, catedrático de Filosofía, compusieron dicho comité. Desde entonces, propuestas y contrapropuestas. En el acta correspondiente a la reunión del patronato celebrada el 3 de diciembre de 1998, consta el debate sobre posibles áreas de interés en Biomedicina. Rechazadas algunas, se reclamó información sobre terapia génica —entonces neonata en nuestro entorno— al doctor García Barreno, que se mostró partidario de apoyar la creación de un centro de terapia génica integral: «desde el laboratorio a la clínica». Tras la marcha a Estados Unidos de miembros del Patronato, don Enrique Martínez Berro comunicó a García Barreno la resolución adoptada por el Patronato de la Fundación, en su reunión del día 2 de noviembre, de nombrarle coordinador del proyecto *Terapia génica*. Algunos meses antes —el 11 de marzo—, el Patronato había nombrado a don Federico Ysart director general de la Fundación, manteniendo don Enrique el cargo de director gerente.

El azar quiso que una semana después se celebrara en Washington D.C. el 1st Nature Biotechnology-Gene Therapy Symposium; también, que Francisco J. Ayala, entonces secretario de la Comisión Asesora para Ciencia y Tecnología del presidente W. J. Clinton, estuviera en aquella ciudad. El viaje era obligado. El profesor Ayala allanó el camino. Tras varias reuniones con Theodore Friedmann, «padre de la terapia génica», Helen Blau y David Curiel —todos ellos pesos pesados en el campo—, regresé con un nombre: José Luis Jorcano Noval. No le conocía personalmente. Dirigía el Grupo de Biología en el Centro de Investigaciones Energéticas y Medioambientales (CIEMAT). El 26 de noviembre se envió a los miembros del

Patronato el informe elaborado por García Barreno sobre la reunión. Pocos días después, el 3 de diciembre, se firmaba un convenio entre la Fundación Botín y el CIEMAT, por nueve años. Dirigía el centro el profesor Félix Ynduráin.

Aquella propuesta fue motivo de alguna sorpresa. Siempre tuve el respaldo fundacional; y también el apoyo de Francisco J. Ayala, de la Universidad de California, en Irvine, y de Frederick F. Becker, vicepresidente de investigación, y José Trujillo, director del laboratorio de Bioquímica y Biología Molecular del M. D. Anderson Cancer Center, en Houston. Ellos fueron los primeros asesores de aquella decisión. Hubo un fuerte compromiso con el grupo —en el que se encontraba Juan Bueren— liderado por el doctor Jorcano y con el laboratorio de Biología, que mejoró, con creces, las instalaciones.

Tras una fructífera experiencia inicial, diversos factores obligaron a cambiar la estrategia del programa. Aquello causó una fuerte decepción personal e institucional. La feliz sonrisa inicial se convirtió en gesto adusto. Esto fue el comienzo del fin de lo que puede considerase la «primera etapa» del Programa de Ciencia de la Fundación Botín. El ímpetu inicial se mantuvo a flote gracias al apoyo incondicional de don Emilio Botín, que permitió una segunda oportunidad, y al nombramiento de un nuevo director general, don Rafael Benjumea, en marzo de 2002, que asumió la dirección y gestión de la Fundación. A los pocos días de su incorporación mantuvimos una larga conversación. Le expuse la idea de partida: «*bench-to-bedside*» o biomedicina traslacional. Estuvo de acuerdo, pero apuntó que debería darse un vuelco a la estrategia. Visitamos al nuevo director general del CIEMAT, pero sin el resultado esperado. La idea de un centro integral de terapia génica se esfumó definitivamente denunciándose el convenio suscrito.

La «segunda etapa» del programa se sustentó, en su concepción general, en un modelo que comenzó su andadura en 1954, el Howard Hughes Medical Institute (HHMI): «El propósito primario y el objetivo del HHMI será la promoción del conocimiento humano en el campo de las ciencias básicas (principalmente en el área de la investigación y de la educación médicas) y su aplicación efectiva en beneficio de la humanidad».

La adaptación del modelo a nuestro entorno no era baladí. Seleccionar investigadores «básicos» y, respetando su hacer, orientar al menos parte de su trabajo hacia la creación de valor añadido requería, y requiere, solventar un cuello de botella variopinto: aun siendo importante la irregularidad de la financiación y la rigidez de su aplicación, igual o más lo son una mentalidad muy asentada sobre la prioridad absoluta de la publicación de los resultados junto a una idea muy difusa sobre su potencial de valor añadido, desconfianza hacia la presencia de actores externos y carencia de herramientas para una transferencia eficaz a pesar de la profusión de oficinas de transferencia de resultados de investigación (OTRI). Tan importante como la estabilidad económica era, y es, la imperiosa necesidad de contar con profesionales de transferencia tecnológica. Pero al final de la implementación de todo el proceso (*pipeline*) nos encontramos con una dificultad adicional que, en parte, contradice el intento de relegar un poco el problema de la financiación. Para validar, para realizar la prueba de concepto de un pre-producto a efectos de presentarlo al mercado con el consiguiente cuaderno de ventas y plan de negocio, se necesita un capital, pequeño, pero

financiación al fin y al cabo, inexistente en nuestro entorno. Se planteó crear un fondo para hacer frente a este problema en caso de conseguir llevar un resultado hasta este punto, y que se convirtió en el embrión de Mind the Gap.

El primer año largo de esta nueva andadura se orientó a formar un grupo de *transferólogos* profesionales. Los requisitos eran ostentar un doctorado en alguna de las ciencias experimentales, tener experiencia en el campo empresarial y conocimiento del mercado internacional. Y ¿dónde buscar ese mirlo blanco?

Bastantes años atrás se había presentado en el laboratorio que por aquel entonces yo dirigía un recién licenciado en veterinaria. De nada le conocía ni nadie me había hablado de él. Su incorporación fue inmediata. Al final, bajo mi dirección, realizó el trabajo de su tesis doctoral sobre fosfoinosítidos de la pared arterial. Una excepcional persona y un gran profesional. Una serie de razones le llevaron al abandono de la investigación y a proyectar su futuro en la empresa. Allí, en una entonces apabullante multinacional farmacéutica, triunfó. Le seguí la pista; más bien el llevó siempre la iniciativa. Cada vez que coincidíamos: «Don Pedro, a ver cuándo hacemos algo juntos». En la fase ya nebulosa de la primera época le consulté algunas dudas en el *pipeline* traslacional. Sin duda era, y es, la persona adecuada. Don Rafael habló con él y se entendieron con rapidez. Poco costó incorporarle al proyecto, primero como consultor (en 2003) y, finalmente, como parte integrante del equipo, en enero de 2007. En ese momento, Francisco Moreno asumió la dirección de lo que habría de ser la Unidad de Transferencia, y Pedro García Barreno la coordinación general del programa. Paco tuvo las manos libres para ir alambicando un equipo; los integrantes deberían, y deben, reunir las condiciones apuntadas, además de poseer la capacidad personal para amoldarse al grupo investigador, sin perder de vista que la relación del grupo de transferencia con inversores y empresas es igualmente fundamental.

La unidad, dirigida por Francisco Moreno, ha estado o está integrada por Lala Aguadé, Myriam Asunción, Pablo Cironi, Ángel Durán, Simone Frieiro, Pepa Limeres, Usue Martínez Stuyk, María Paniagua, Daniella Piazzolla, Marisol Quintero, Michael Tadros, Ana Villafaina y Miriam Zeini. Algunos de ellos dejaron la Fundación para incorporarse como responsables de la gestión de I+D en diferentes instituciones; algo que siempre ha sido una satisfacción y ha servido de estímulo. Mejorar la formación de profesionales competentes con proyección al mercado es uno de los objetivos, llámese colaterales, del proyecto; profesionales capaces de dar un vuelco al *lost in translation* en el proceso de transferencia de conocimiento.

¿Y la relación con las instituciones? Nos presentamos con un lenguaje un tanto alejado de lo habitual. Ni subvenciones ni patrocinios; inversión. Tampoco se acepta un porcentaje para gastos o costes generales —*overhead*—; se pretende constituir una especie de UTE (unión temporal de empresas): UT3 (unión temporal para transferencia de tecnología). Si hubiera retornos, se discute el porcentaje de los beneficios; el porcentaje pactado correspondiente a la Fundación, siempre minoritario, se reinvertirá en el programa. Los centros han de ser nichos científico-técnicos con suficiente masa crítica y con mecanismos de control científico homologados internacionalmente.

Las instituciones con las que se ha colaborado, a través de sus unidades de gestión de I+D, pueden dividirse en dos grupos. Uno en el que estarían aquellas a las que pertenecen o han pertenecido investigadores del programa: Centre de Regulació Genòmica (CRG), Biocat, Barcelona; Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» (CBM), CSIC, Madrid; Centro de Investigación del Cáncer, Universidad de Salamanca; Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), Secretaría de Estado de I+D+i, Madrid; Centro Nacional de Biotecnología (CNB), CSIC, Madrid; Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), Instituto de Salud Carlos III, Madrid; Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC), Universidad de Barcelona; Institut Català de Nanociència i Nanotecnologia (ICN2); Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), Barcelona; Institut de Recerca Biomédica (IRB), Universidad de Barcelona; Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Universidad de Sevilla; Instituto de Neurociencias de Alicante, UMH/CSIC; Universidad Complutense de Madrid; Universidad Politécnica de Madrid; Universidad de Oviedo; Universidad de Santiago de Compostela; Universidad de Valencia; y Universitat Pompeu Fabra, Barcelona. Y otro, con aquellas que, sin tenerlos, se han interesado por introducir en sus procedimientos de gestión de I+D o al menos discutir las premisas del programa de la Fundación: Fundación CIDAUT para la investigación y desarrollo en transporte y energía, Valladolid; Unidades de Investigación de los hospitales Clinic, Vall d'Hebron y San Pau, de Barcelona; La Fe, de Valencia; La Paz, Puerta de Hierro, Ramón y Cajal y Gregorio Marañón, de Madrid; Xeral, de Galicia; General, de Oviedo; e Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias (INIA). En ambos casos se ha conseguido un grado de sintonía, primero, y de colaboración, después, difíciles de prever.

¿Y los investigadores? Porque son ellos los protagonistas de esta «ambiciosa idea». La Fundación apoya a investigadores y, en principio, no a la institución en la que realizan su trabajo (en la jerga del HHMI, «*people, not projects*»). El programa no financia infraestructuras. El perfil de investigador Howard Hughes es una «*turbo-charged version of the system used to promote scientists up the road at NIH*», alguien con una «*uncommon curiosity*» involucrado en «*transforming discoveries*». Con estas premisas y asumiendo las características implícitas de su trabajo (*high risk, high reward research*), la Fundación aporta, invierte, una cantidad significativa con el fin de que el soporte financiero de su trabajo básico no se vea afectado por el nuevo compromiso, ayuda de la que el investigador es gestor directo (*flexible funding*). Otra característica del programa es la no interferencia con la labor investigadora (*few constrains*). Y, tal vez lo más importante, la asistencia por profesionales del negociado transferencial.

No hay convocatoria abierta, no se solicitan currículos ni proyectos; esto lo suple un observatorio que se encarga de recabar información global sobre los posibles candidatos. La selección de investigadores del perfil apuntado se realiza en cuatro fases. La primera, sobre la información obtenida a partir de organismos de referencia: EMBO, European Research Council, Zero Project de la Universidad de Harvard, distinciones de sociedades científicas o «recomendaciones» por pares... Además, todos los candidatos deben haber superado el filtro de la selección y la evaluación científica periódica de los centros en los que están ubicados y son «seguidos» durante un mínimo de dos años por el coordinador del programa a efectos de comprobar su plena integración en su nuevo «retorno» de trabajo. En la segunda y tercera fases, los candidatos son analizados por pares: los investigadores líderes

de los grupos integrados en el programa. El corte inicial señala los diez mejor valorados, y el segundo, los cinco primeros. Luego, el coordinador del programa recaba información sobre estos cinco «finalistas» para un comité externo que fija un orden de prelación. Una vez seleccionados los candidatos, se presentan, para su aprobación definitiva, al director y al Patronato de la Fundación. Y ya obtenida la conformidad, el coordinador lleva a cabo una ronda de conversaciones a efectos de explicar a los candidatos las características del programa. En algún caso, el candidato seleccionado ha rehusado las «condiciones» del programa. En total, se ha evaluado a noventa y seis investigadores. Luego se contacta con la institución correspondiente. Y cuando se llega a un acuerdo, se ejecutan las acciones administrativas que culminan con la firma de un convenio entre la Fundación, el investigador y su centro.

Los contratos tienen una duración de dos años, prorrogables hasta cinco y renovables año a año. El final del segundo año marca un verdadero punto de inflexión en el que, o bien se evidenciará el compromiso si no se han alcanzado los objetivos marcados, o bien se entrará en una nueva fase de colaboración para otros tres años. Independientemente del seguimiento anual, se realiza una auditoría económica externa al finalizar el programa paralelamente a otra técnica del proyecto. Para todo ello se constituye un sistema estructurado de seguimiento y control basado en objetivos cuantificables, tanto finales como intermedios, establecidos con el investigador. Pese a la necesaria planificación que este enfoque requiere, se respetan siempre los aspectos básicos del espíritu del programa: la libertad de acción del investigador, la cercanía de la relación y la ausencia de burocracia. Para ello, cada gestor trabajará codo con codo con el investigador y su institución para adaptar la intervención de la Fundación a cada caso.

Respecto al investigador y su institución, la gestión de la transferencia corre a cargo de los expertos de la Fundación; por supuesto, en estrecha colaboración con la OTRI correspondiente. En este contexto, la relación entre investigador y transferólogo es crucial. El papel de este último es la detección de la idea innovadora y su incorporación a la cadena de valoración, en una relación en el día a día entre ambos profesionales con el objetivo de hacer de la confianza mutua la principal herramienta de trabajo.También, convencer al investigador para adecuar sus procedimientos experimentales a las exigencias que todo producto con pretensiones industriales debe cumplir (*Good Laboratory Practices*) y para alcanzar un equilibrio entre la prioridad científica y la valorización socioeconómica de la idea. Y vacunarles contra el «síndrome de patentabilidad»: solo debe patentarse lo que, presumiblemente al menos, tiene una posibilidad razonable de «éxito», y además existen otras formas de defender la propiedad intelectual.

Los responsables de los grupos de investigación científica han sido o son: Jesús Ávila, Eduard Batlle, Carlos Belmonte, María Antonia Blasco, Juan Bueren, Ángel Carracedo, María Domínguez, Mariano Esteban, Manel Esteller, Isabel Fariñas, Óscar Férnández-Capetillo, Gustavo Guinea, Joan J. Guinovart, José L. Jorcano, Laura Lechuga, José López Barneo, Carlos López Otín, Raúl Méndez, María Teresa Miras, Modesto Orozco, Juan Ortín, Francesc Posas, Josep Samitier, Eugenio Santos, Luis Serrano, Manuel Serrano, Ricard Solé y Juan Valcárcel. A principios de 2015 se incorpora Salvador Aznar-Benitah, del IRB. La

primera incorporación de un investigador al programa, en esta segunda etapa, se produjo a finales de 2004.

Algunos de ellos, tras concluir el periodo quinquenal que establecen las bases de los convenios suscritos, han pasado a un régimen especial —«Investigador Botín»— por el que mantienen una relación prolongada con la Fundación en los mismos términos establecidos en los contratos iniciales; es el caso de José López Barneo, Carlos López Otín, Francesc Posas, Manuel Serrano y Juan Valcárcel. En cualquier caso, el apoyo del Grupo de Transferencia de la Fundación se mantiene sine díe a cualquiera de los grupos que lo demande. En enero de 2015 se incorporan a este programa María A. Blasco y Ricard Solé.

Que varios investigadores hayan sido promovidos en sus instituciones para ocupar puestos de responsabilidad de gestión de I+D —y lo han hecho con el espíritu del programa fundacional— es algo que merece la pena analizar. ¿Será consecuencia directa del programa? Por último, hay que reclamar la atención sobre un punto que se antoja importante: no es posible identificar a priori el comportamiento de los investigadores respecto a los objetivos del programa. El «rendimiento» de cada uno de los investigadores integrados en la acción emprendida se va conociendo a medida que recorren, juntos, el camino. Inversión y riesgo ponderado corren parejos.

Durante esta segunda etapa estuvo operativo un grupo de seguimiento formado por Cristina Garmendia, Antonio Garrigues, Ricardo Martí-Fluxá y Regina Revilla. La primera abandonó el grupo tras su nombramiento como ministra de Ciencia e Innovación. También fue frecuente la asistencia de algunos de los investigadores a las reuniones del Patronato de la Fundación, lo que permitió a los patronos conocer de primera mano la personalidad, trabajo y opinión de estos. Además, quedó establecida una reunión anual —el primer lunes de febrero— de todos los investigadores del programa.

También durante este periodo se llevaron a cabo dos acciones especiales. La primera, con motivo del incendio de los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Universidad Austral de Chile. Se formalizó un acuerdo de colaboración con la universidad chilena merced al cual siete doctorandos —Romina P. Bertinat, Rodrigo Gática, Víctor Olavarría, Fabián Pardo, Alejandro Pérez, Carlos Spichiger y Zahaday Velásques—, que vieron interrumpido su trabajo, se incorporaron a grupos españoles a fin de concluirlos y por periodos de entre seis y veinticuatro meses, entre junio de 2008 y agosto de 2010. Jesús Ávila (CBM, CSIC), Carme Caelles (Univ. Barcelona), Ramon Gomis (Univ. Barcelona), Joan J. Guinovart (Univ. Barcelona), M.ª Pilar Lostao (Univ. Navarra) y Victoriano Mulero (Univ. Murcia) se encargaron de acoger y supervisar el trabajo y codirigir la tesis. Se firmaron los correspondientes convenios de colaboración con las instituciones españolas (en algún caso, como J. Ávila y J. Guinovart no fue necesario por estar entonces incorporados al programa de la Fundación); acuerdos que incluyeron la venida de los correspondientes directores chilenos —Jaime Figueroa, Alejandro M. Reyes, Juan C. Slebe y Alejandro J. Yáñez— para establecer vínculos científicos personales.

La segunda acción estuvo dirigida a investigadores de calidad implicados en investigación orientada a la enfermedad. Se incorporaron un investigador del convenio con la universidad

chilena —el profesor Gomis, de la Fundació Clínic de Barcelona—, otra perteneciente a la Universidad de Extremadura —la doctora Ana M.ª Mata—, y otro a la Universidad de Granada —doctor Rafael Saltó—; en los tres casos el convenio tuvo una duración de cinco años.

Don Rafael Benjumea cedió el testigo a don Íñigo Sáenz de Miera en octubre de 2009. Lo que se ha apuntado líneas atrás sobre la posible creación de un fondo de financiación ágil con el fin de abordar con otros posibles socios las acciones necesarias para consolidar el proceso inicial de la valoración de un resultado que permita acudir a la arena empresarial con un plan de explotación consistente fue la apuesta del nuevo director. Esto se plasmó en el programa Mind the Gap, que dio sello de identidad a la «tercera etapa del programa». Y en ella estamos, apoyando la investigación y apostando por la transferencia efectiva de los resultados.

En primer lugar, Mind the Gap aborda específicamente la brecha de la definición del producto tecnológico. Es la fase más arriesgada del desarrollo, pero sin la cual no es posible alimentar el motor de la innovación tecnológica. Para cubrir este *gap*, la Fundación Botín aporta financiación allí donde nadie lo hace y pone en valor la capacidad de gestión del científico y la institución investigadora en su relación con terceros, especialmente con el mundo de la empresa y el capital. Existen, por supuesto, otras brechas que salvar conforme se sigue avanzando en el desarrollo del producto, pero, a diferencia del primero, en los *gaps* ulteriores la Fundación Botín dejaría de aportar el valor de su gestión, perdiendo su papel activo como verdadero agente dinamizador del desarrollo socioeconómico.

La financiación de los proyectos Mind the Gap está pensada para cubrir todas aquellas acciones necesarias para completar la definición del producto. Esto abarca un amplio abanico de actividades, entre las que se encuentran, entre otras, la validación técnica, los estudios de mercado, el análisis de la situación de la propiedad industrial y la estrategia de refuerzo de esta. Igualmente, será necesario explorar las posibles oportunidades y modelos de negocio, lo que puede incluir, dependiendo de cada caso, un cierto grado de validación del modelo de negocio frente al mercado. El objetivo es poder preparar un cuaderno de venta atractivo de cara a los potenciales inversores o socios industriales que vayan a tomar el relevo. Para conseguirlo, se establece un plazo máximo de dos años y un tope económico definido.

Mind the Gap se plantea como una plataforma de colaboración interinstitucional. Es decir, el programa reúne a un grupo de entidades que ponen en común sus mejores tecnologías con vistas a generar una cartera de proyectos capaz de captar la atención de los inversores. Con el fin de garantizar la calidad de los proyectos y optimizar sus probabilidades de éxito, estas instituciones acuerdan someterse a un estricto proceso de selección a través de un comité de expertos independientes. Por último, el programa define para los proyectos financiados un modelo de gestión empresarial que responde a criterios de eficiencia y rentabilidad. Ahora bien, hablar de «gestión empresarial» no implica constituir una empresa por cada proyecto. No obstante, nuestro país carece a día de hoy de estructuras de transferencia tecnológica capaces de aportar la necesaria capacidad de gestión a estos proyectos. Por ello, la Fundación se verá abocada en muchos casos a crear nuevas empresas, al menos en la primera etapa del recorrido del programa. Se espera que esta situación cambie conforme

el programa se consolide y se demuestre la viabilidad del modelo, despertando la necesidad de nuevas estructuras de gestión. En cualquier caso, es importante recordar que en Mind the Gap la creación de empresas es un medio y no un fin en sí mismo.

Mind the Gap se perfila así como un programa capaz de crear una referencia dentro del tercer sector. De confirmarse el modelo propuesto, permitiría demostrar que es posible provocar un efecto dinamizador y un impacto social a largo plazo mediante la inversión en ciencia y transferencia de tecnología. Por medio de Mind the Gap, la Fundación Botín consolida un papel coherente con su objetivo de área de apoyar la transferencia tecnológica, con sus capacidades en gestión de la ciencia y la innovación y, a más alto nivel, con su misión fundacional de contribuir al desarrollo socioeconómico de nuestro país.

El grupo de seguimiento del programa se integró en un Comité Asesor. En enero de 2014 se incorporó al programa el Banco Santander a través de su División Global Santander Universidades. Mind the Gap y la gestión global del programa recaen en la Fundación, mientras que el Banco asume la financiación de los grupos de investigación. Hace un par de meses, don Javier Botín O'Shea se hizo cargo de la presidencia del patronato de la Fundación Botín, donde ha vivido, como patrono y desde su inicio, las vicisitudes de esta historia.

La repercusión, cada vez más importante, de la ciencia y de la tecnología en múltiples facetas de la actividad humana —nuevos modos de acceso a los recursos naturales, cambio climático, utilización de energías renovables, urbanismo, producción de alimentos, atención médica, etcétera—, junto con la dificultad y lo complicado de los factores sociales y éticos asociados, orientarán la capacidad para determinar el futuro, y esto exige a todos una mayor preparación científica. Los políticos deben comprender los rudimentos de la evidencia científica y la sociedad, en su conjunto, debe estar suficientemente informada para poder participar en el debate de las complejas repercusiones que se derivan del avance de la investigación científica y del desarrollo e innovación tecnológica constantes. Esta sensibilidad hacia el conocimiento debe comenzar en la escuela, donde despertar la curiosidad y la formación científica deben ocupar un lugar relevante en nuestra cultura.

Las tecnologías innovadoras han hecho de las sociedades occidentales las más avanzadas de la historia. Han posibilitado una economía más competitiva, han creado millones de puestos de trabajo y han respaldado nuestro estándar global de bienestar. Han mejorado nuestra salud y ampliado nuestra expectativa de vida. Pero tales logros no aparecieron de la noche a la mañana. Son el resultado de un compromiso, mantenido a lo largo de decenas de años, que ha tenido y tiene como objetivo constante de la política de las naciones más desarrolladas fomentar el descubrimiento científico y el desarrollo de nuevas tecnologías. Esto ha sido posible gracias a un doble juego, el apoyo de las Administraciones Públicas a programas de investigación académica como una inversión vital para el futuro de los países, y el papel de la industria conduciendo las nuevas tecnologías hacia el mercado. Este compromiso entre los recursos educativos y de investigación científica de las universidades y centros de investigación, la financiación de los gobiernos y la transferencia tecnológica de

industria ha sido el factor protagonista para mantener el liderazgo tecnológico basado en la innovación continua.

Pero la innovación no es algo simple; no es un sistema lineal en el que la investigación «básica» concluya en tecnología y esta en innovación, aunque este haya sido el modelo utilizado universalmente para presentar la transferencia tecnológica. La innovación es un ecosistema complejo sometido a una serie de interdependencias y retroalimentaciones todavía no bien comprendidas ni, sobre todo, cuantificadas con facilidad. Con el tiempo, el ecosistema innovador, la valorización de la idea, la transferencia tecnológica o el *bench-to-bedside* serán mejor comprendidos. Mientras tanto, investigadores, instituciones, financiadores, munificentes, empresas, economistas y analistas deberán aprender a colaborar el tiempo suficiente y no agotar sus esfuerzos en acciones no coordinadas a corto plazo que son costosas, representan mero gasto y son inútiles al no permitir extraer conclusiones, ni siquiera esbozar un panorama real de la situación. La investigación científica no produce «riqueza» a corto y medio plazo. Los beneficios actuales son el resultado de logros científicos de hace no menos de dos décadas. La próxima generación de fármacos o instrumentos, o la comprensión de patologías hoy rebeldes, dependen del conocimiento de hoy y de mañana. El «fondo de garantía» reclamado a efectos de estabilidad financiera debería ir acompañado por otro «fondo de garantía», imprescindible para la consolidación del anterior, en educación, formación, matemáticas, ciencia y tecnología.

Sirvan de cierre a estas reflexiones y como introducción al capítulo que sigue unas palabras de la introducción a «otra idea» —*The Wisconsin Idea*— escritas en 1912 por el presidente Theodore Roosevelt:

> Como el profesor Simon Nelson Patten [1852-1922] decía: «Sin medios para alcanzarlo ni formas de medir sus resultados, un ideal se torna algo carente de sentido. El verdadero idealista es un pragmático y un economista. Exige resultados mensurables y los alcanza con los medios que brinda la eficiencia económica. Solo así es posible el progreso social». [...] Los reformistas de Wisconsin han logrado extraordinarios resultados a los que tanto debe la nación entera, principalmente porque no se han limitado a soñar y después a hablar de sus sueños. Han tenido, qué duda cabe, la capacidad para concebirlos: de no haber albergado la posibilidad de imaginar, nada habrían logrado; pero han intentado que sus ideales fueran realizables y después han intentado, con gran éxito, realizarlos verdaderamente. En cuanto decidían que cierta cosa era deseable, de inmediato se ponían a la labor práctica de estudiar cómo desarrollar la maquinaria constructiva con la que alcanzarla. No es esta una actitud fácil de mantener. No obstante, es la que todo verdadero reformista debe mantener.

Mi gratitud a don Emilio Botín, que escuchó, confió y dejó hacer.

Madrid, enero de 2015

Evaluación del Programa de Ciencia de la Fundación Botín (2005-2014)

A modo de continuación del texto previo, habría que recordar a Linus C. Pauling (1901-1994), premio Nobel de Química en 1954 y de la Paz en 1962: «La mejor manera de tener una buena idea es tener una enormidad de ellas». O a Johann W. von Goethe (1749-1832): «Conocer no es bastante; debemos resolver. Intentarlo no es suficiente; tenemos que hacer». Y, si lo hacemos, como decía William Thomson, lord Kelvin (1824-1907): «Cuando usted puede medir lo que está hablando y expresarlo en números, realmente sabe de lo que está hablando. Si no puede hacerlo, su conocimiento es a duras penas creíble».

1. Génesis y objetivos. ¿Por qué un modelo de evaluación?

Desde su concepción e inicio en 2005, el Área de Ciencia de la Fundación Botín asume la importancia de contar con indicadores que permitan medir el progreso hacia los objetivos marcados y comparar la eficacia de la gestión en relación con la de las instituciones de referencia en transferencia tecnológica. En 2012 se inicia un proceso de reflexión profunda sobre el impacto de los programas de ciencia, motivado por una doble necesidad: por un lado, conocer si los recursos invertidos están teniendo un impacto real en la calidad de vida y en la riqueza del país y, por otro, disponer de información que permita rendir cuentas ante la sociedad a la que sirve en general y ante los grupos de interés en particular. Una vez diseñado el Modelo de Evaluación y aplicado para el periodo de 2005 a 2011, y con el fin de incorporar las medidas definidas en operativa de gestión del área y facilitar su obtención, evaluación y seguimiento futuro, durante 2013 se trabaja para la adecuación de los procedimientos y la actualización de la valoración a través de una herramienta propia. Actualmente se continúa avanzando para establecer la mejor forma de comunicar resultados, que periódicamente son revisados y actualizados por los diferentes grupos de interés con los que el Área de Ciencia interactúa.

2. El ecosistema de ciencia y tecnología en el que actúa el Área de Ciencia

El Área de Ciencia trabaja sobre un marco claro que se sustenta en el apoyo a los investigadores principales y a sus equipos. Estos desarrollan sus proyectos de investigación en los laboratorios albergados en las instituciones de referencia en las que trabajan, y reciben apoyo, asesoramiento y guía por parte de la Fundación para lograr que sus métodos de trabajo y líneas de investigación favorezcan la transferencia a la sociedad de los resultados derivados de su actividad investigadora.

El foco principal del trabajo que se realiza se centra en la orientación y el acompañamiento a los investigadores principales como piedra angular del ecosistema de ciencia y tecnología sobre el que se quiere actuar. El apoyo a estos equipos actúa como catalizador y dinamiza el proceso de transferencia, agiliza la identificación de ideas con potencial de explotación, activa desde etapas tempranas los resortes necesarios para que se puedan acercar al mercado y analizar su interés, respalda la maduración de dichas ideas y favorece que las tecnologías incipientes con posibilidad comercial encuentren una vía de llegada al mercado. El cribado de ideas y la identificación de aquellas con capacidad para transformarse en activos que se puedan valorizar son actividades de singular relevancia que facilitan la orientación de recursos y contribuyen a una mayor eficiencia en el ecosistema.

3. Características del método empleado

Considerando el marco de actuación, el modelo de contribuciones del Área de Ciencia se ha diseñado partiendo de un proceso de reflexión orientado a dar respuesta a tres cuestiones básicas (fig.1). La reflexión se ha sustentado en un método riguroso, basado en el análisis global de la actividad de la Fundación en el marco de los programas de ciencia desde 2005; participativo, elaborado con la dirección del área y con los técnicos de transferencia tecnológica, conocedores de la actividad investigadora; e iterativo, a partir de una continua reflexión, revisión y adecuación de los parámetros del modelo.

4. Ámbitos de contribución

Como resultado, el modelo definido y evaluado ha permitido visibilizar logros en cinco grandes ejes, a los que se ha contribuido en el conjunto del ecosistema en que se actúa: cultura investigadora, conocimiento, actividad económica, sociedad y persona.

En concreto, se puede afirmar que, con sus actuaciones, el Área de Ciencia ha contribuido en el periodo analizado a generar un cambio de actitud que persigue el desarrollo de una ciencia valorizable; a la vez se fomenta igualmente la profesionalización del proceso de transferencia tecnológica que facilita dicha valorización. Ha contribuido además a favorecer un conocimiento útil e innovador que reporta beneficios a la sociedad a través de su valorización para que el mercado reconozca el conocimiento generado y oriente su apoyo a facilitar el desarrollo de productos y servicios y a que parte de los agentes que operan en este también lo reconozcan. También a potenciar la colaboración público-privada y el trabajo en red para optimizar los recursos que la sociedad —Administraciones Públicas— destina a fomentar la investigación, el desarrollo y la innovación y desarrollar productos o servicios en el área biomédica que tienen como objetivo una mejora de los niveles de salud de la sociedad (fig.2).

5A. Conclusiones de la evaluación. Visión global

El impacto del Área de Ciencia se produce en el conjunto del ecosistema, si bien varía en cuanto a intensidad y tipo de resultados dependiendo de la mayor o menor cercanía a la propia área y del momento en que se producen.

Figura 1

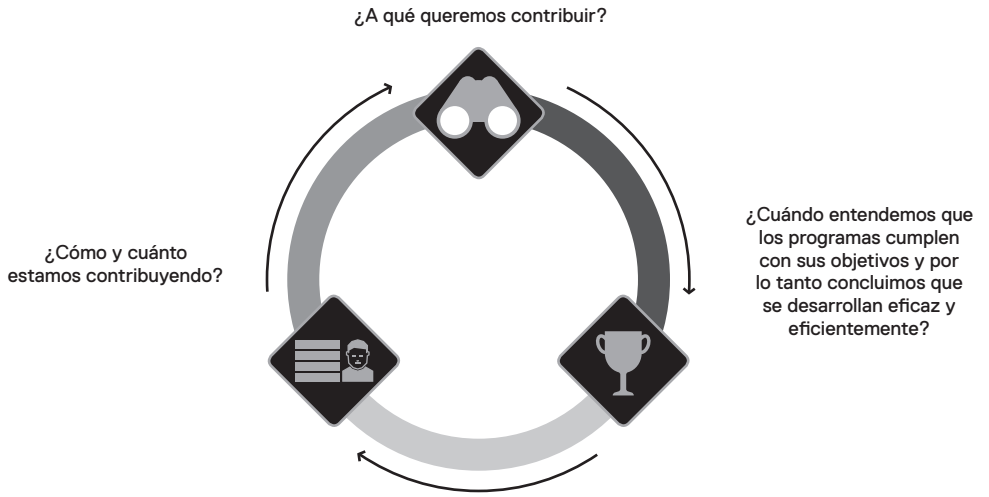
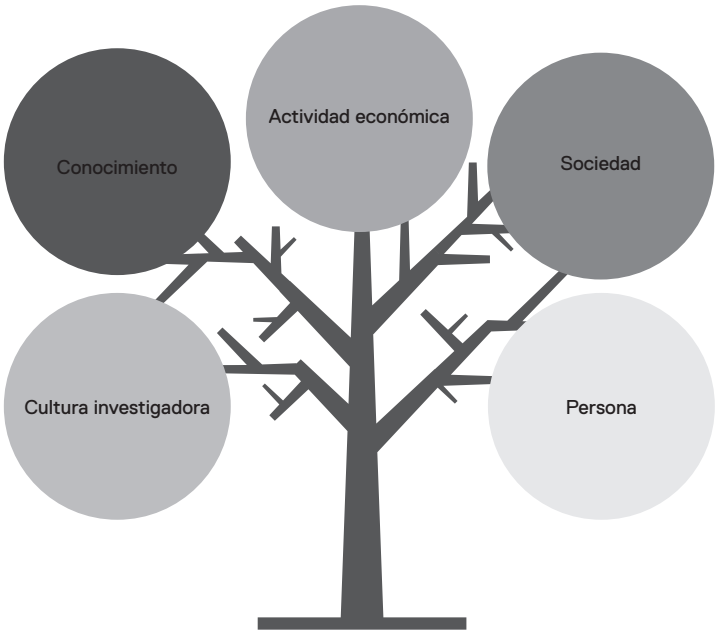
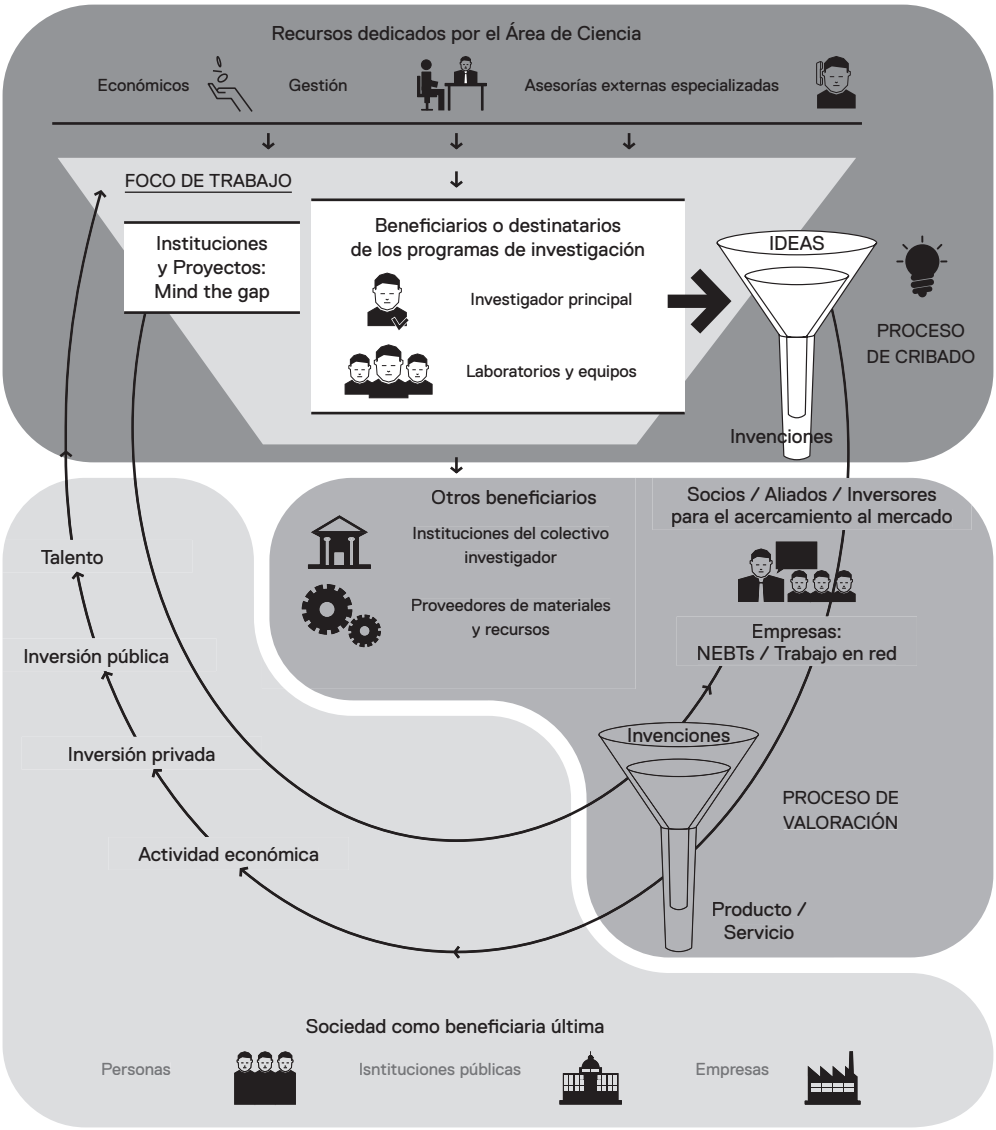


Figura 2



Árbol de contribución del Área de Ciencia



Impactos directos
Resultados obtenidos por la actuación directa del Área de Ciencia. Se traducen en indicadores medibles a corto plazo en los ámbitos en los que se focaliza: los investigadores y la actividad que estos desarrollan.

Impactos indirectos
Conjunto de resultados de carácter indirecto que se producen a medio y largo plazo como consecuencia de la actuación de otros agentes y del impulso en los diferentes estadios de la cadena de transferencia tecnológica.

Impactos inducidos
Recoge los resultados que a largo plazo revierten en el ecosistema de ciencia y tecnología en general y a la Fundación en particular. Estos resultados representan el reconocimiento y puesta en valor que la sociedad y sus agentes hacen de la actividad desarrollada.

5B. Conclusiones de la evaluación. Impacto directo

La contribución del Área de Ciencia a los cinco ejes mencionados (cultura investigadora, conocimiento, actividad económica, sociedad y persona) se traduce en impactos directos y medibles a corto plazo en los ámbitos en los que se centra: los investigadores y su actividad. Las conclusiones asociadas a la evaluación del modelo ponen de manifiesto los impactos directos generados en diferentes ámbitos de contribución:

Apoyo a la investigación

Desde 2005 se ha trabajado con 28 de los investigadores españoles más prestigiosos en el ámbito nacional e internacional en sus áreas de conocimiento. Muestra de ello es que el 37% de los investigadores principales apoyados ha recibido el reconocimiento del Consejo Europeo de Investigación a través de las subvenciones del European Research Council (ERC).

• En este periodo se han destinado 27,8 millones de euros a su apoyo directo y se han dedicado 20 millones de euros adicionales a la gestión del Área de Ciencia y al programa de transferencia tecnológica Mind the Gap. Esto supone una dedicación media anual de 4,7 millones de euros al apoyo a la ciencia.

• En 2014, la aportación de la Fundación ha supuesto el 23% de los recursos económicos captados por los equipos de investigación del programa.

• Este apoyo ha permitido a los investigadores abordar proyectos con un mayor componente de riesgo y con más flexibilidad en sus ámbitos de interés y especialización.

Empleo de alta cualificación

• Se ha contribuido al empleo directo de 447 personas en el periodo de 2005 a 2014 en el marco de los programas de investigación, que, con una duración aproximada de cinco años de apoyo, representan 82 empleos directos al año como promedio.

• Adicionalmente, la propia Área de Ciencia ha mantenido seis empleos al año.

Talento científico

• El Área de Ciencia contribuye a retener, potenciar y atraer el talento, estabilizando y reforzando los equipos de investigación.

• Desde el inicio del programa, la Fundación ha hecho posible que 447 jóvenes investigadores desarrollen su carrera en 27 laboratorios del máximo nivel:

- Reteniendo a científicos que, de otro modo, se verían obligados a irse.

• Captando a jóvenes prometedores que inician su carrera investigadora.

• Atrayendo a investigadores extranjeros brillantes para que se incorporen a los grupos españoles.

• Posibilitando que investigadores que están empezando desarrollen estancias de investigación en instituciones de referencia internacional.

Compromiso con el proceso de transferencia

• Cada grupo investigador ha recibido un apoyo presencial de 37 horas de media anual. La cercanía de los técnicos de transferencia y el clima de confianza que se genera entre estos y los investigadores facilita la compartición de ideas.

• Además, se han proporcionado labores de asesoría externa especializada en el periodo de 2005 a 2014 valoradas en 150.000 euros adicionales de media anual.

• Este esfuerzo ha sido reconocido a través de la concesión de diversos galardones, como el reciente Premio Nacional de Mecenazgo Científico de la Fundació Catalana per a la Recerca i la Innovació o el Premio Corresponsables, que en 2013 seleccionó a la Fundación Botín entre más de cuatrocientas candidaturas de dieciocho países diferentes.

Conciencia social y cambio de actitud

• En el proceso investigador, la difusión del conocimiento científico generado es un elemento clave, ya que su publicación permite poner en valor y compartir con la comunidad científica los avances logrados.

• En este contexto, el Programa de Ciencia persigue inducir un cambio cultural en los investigadores, de tal manera que a la variable anterior se sume una reflexión previa sobre la utilidad social de sus descubrimientos y avances. En esta reflexión, el papel del Área de Ciencia es fundamental.

• Así, los datos muestran que, para 2013, el 98% de las ideas generadas con potencial de explotación se ha comunicado con carácter previo a su publicación. Este dato es reflejo de la influencia real del Programa de Ciencia en las prioridades del investigador: estos contemplan ya no solo la generación de conocimiento científico, sino también su utilidad social a la hora de valorar su difusión.

Conocimiento útil e innovador

• El Área de Ciencia trabaja con ideas que se encuentran en estadios de madurez muy tempranos, lo que implica la necesidad de realizar una importante labor de cribado orientada a diferenciar el conocimiento útil e innovador, con potencial de valoriza-

ción, del puro conocimiento científico. Entre 2005 y 2014 se han evaluado más de trescientas ideas con posibilidad de aplicación, de las cuales el 28% ha derivado en invenciones. En 2014 se ha destinado el 14% del tiempo a la evaluación de ideas e invenciones.

• Esto supone agilizar el proceso de transferencia actuando como catalizador en la selección de ideas con mayor proyección de mercado: se optimizan por lo tanto el tiempo y los recursos canalizándolos hacia ideas con potencial de explotación.

5C. Conclusiones de la evaluación. Impacto indirecto

Además del efecto directo de la actividad de la Fundación en los elementos sobre los que actúa a través del Programa de Ciencia, se ha identificado un conjunto de resultados de carácter indirecto que se produce a medio y largo plazo como consecuencia del apoyo prestado a los equipos de investigación. La evaluación realizada del Programa de Ciencia revela los siguientes impactos indirectos:

Valorización del conocimiento

El proceso de valorización se inicia con la identificación, cribado y evaluación de ideas con opciones de aplicación que dan lugar a invenciones. Para cada una de ellas se determina la estrategia de protección más adecuada, que puede dar lugar a patentes, acuerdos competitivos con empresas (mediante licencia, transferencia, colaboración, etcétera) u otras formas de valorización.

• En el periodo de 2005 a 2014 se han generado 88 invenciones y se han registrado 47 patentes. Esto supone aproximadamente tres invenciones cada cuatro meses y una patente cada trimestre.

• El equipo de ciencia de la Fundación dedica anualmente el 18% de su tiempo a evaluar ideas y asesorar para la protección de la propiedad intelectual.

• Adicionalmente, se ha contribuido a la creación de cuatro nuevas empresas de base tecnológica (NEBT), que han desarrollado cinco productos o servicios que forman parte de su cartera actual.

Movilización de la iniciativa privada. Efecto tractor

• El 80% de la inversión necesaria para la puesta en marcha de las NEBT ha correspondido a inversión privada

• Esto supone que, por cada euro de financiación directa aportada por la Fundación a las NEBT, se han captado o movilizado cuatro euros adicionales de la iniciativa privada.

Dinamización económica

• El gasto asociado a la propia Área de Ciencia y el vinculado con la movilización de iniciativa privada asciende a 1,9 millones de euros de media anual, que contribuyen a la generación de tres millones de euros de PIB. Por cada euro de gasto se contribuye a generar 1,5 euros de PIB

• Asimismo, y como consecuencia de la actividad económica generada, los beneficiarios (investigadores, departamentos e instituciones) pueden obtener retornos gracias a la transferencia o licencia de las tecnologías.

Mantenimiento y creación de empleo

• En conjunto, la actividad del Área de Ciencia ha contribuido al mantenimiento o la creación de 92 puestos de trabajo indirectos, 59 empleos mantenidos a nivel estatal, como consecuencia del gasto vinculado a la propia unidad, y 21 empleos asociados a la creación de las NEBT.

Eficiencia y transformación en las instituciones

• La Fundación ha colaborado con quince instituciones, que suponen el 16% de las Oficinas de Transferencia de Resultados de Investigación (OTRI) estatales en el periodo comprendido entre 2005 a 2014. Corresponden a OTRI de universidades que cuentan con centros de medicina y tecnología.

• Estas instituciones, en su mayoría, comparten la metodología impulsada por la Fundación. Dos de ellas, CNIO (Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas) e IRB (Institut de Recerca Biomèdica), han creado en su estructura un departamento específico de innovación para trabajar siguiendo el método de transferencia tecnológica impulsado por el Área de Ciencia. El cambio cultural promovido a través del Programa de Ciencia alcanza a más de 760 investigadores que trabajan en dichas instituciones con el método y enfoque de la Fundación.

• Los equipos de investigación han destinado parte del apoyo recibido al mantenimiento de infraestructuras y equipos orientados a favorecer y agilizar los procesos de investigación. Entre 2005 y 2013 se han dedicado a estos fines más de 2,3 millones de euros (el 9% del presupuesto total de los equipos de investigación apoyados).

• Adicionalmente, en este periodo las instituciones han recibido 1,7 millones de euros procedentes de la financiación aportada por la Fundación (el 6,8% del presupuesto total).

• En total, estas organizaciones han percibido fondos por valor de cuatro millones de euros, lo que supone un ingreso medio de 266.000 euros por institución.

Transferencia de talento

• Siete investigadores principales ocupan actualmente puestos de responsabilidad y han incorporado la innovación a sus objetivos estratégicos institucionales, creando al menos dos estructuras de innovación o transferencia tecnológica.

• Dos técnicos de transferencia del Área de Ciencia se han incorporado a instituciones colaboradoras como directores de Innovación, ampliando el efecto transformador del programa.

• Igualmente, las iniciativas empresariales impulsadas han captado para su puesta en marcha a cuatro de los investigadores que han participado en el proceso de transferencia desde sus inicios, lo que supone de facto acercar la ciencia a la empresa e incorporar en las organizaciones la importancia de la investigación, el desarrollo y la innovación.

Generación y difusión de conocimiento

• El volumen de publicaciones científicas en el periodo de 2005 a 2013 ha sido superior a 1.335 (una media de 55 publicaciones por investigador), y el número de citas 22.337 (media de 930 citas por investigador y 18 citas por publicación).

• De los quince investigadores que a fecha de 31 de diciembre de 2013 habían completado un ciclo de cinco años con la Fundación, el 80% supera la media mundial de citas en su área de conocimiento. Además, seis de cada diez investigadores mejoraron su media de citas con respecto a los cinco años previos a su colaboración con la Fundación.

5D. Conclusiones de la evaluación. Impacto inducido

Por último, los impactos inducidos recogen los resultados que a largo plazo revierten en el ecosistema de ciencia y tecnología en general y en la Fundación en particular. Estos resultados representan el reconocimiento y puesta en valor que la sociedad y sus agentes hacen de la actividad desarrollada. El análisis realizado refleja los siguientes impactos inducidos por la actividad del Área de Ciencia:

Salud y persona. Mejora de tratamientos y diagnósticos

• Los proyectos de investigación financiados por los Programas de Ciencia trabajan en más de doce grandes líneas de investigación, entre las que destacan en particular el cáncer (al que se dedica el 35% del tiempo de los equipos de investigación), el envejecimiento (el 9%) y las enfermedades neurodegenerativas como el alzhéimer y el párkinson (el 6%), entre otras.

• Los potenciales beneficiarios de los avances superan los 2,3 millones de personas en España. Esto supone una inversión media en investigación de 12 euros por cada beneficiario potencial (atendiendo a la inversión realizada en el periodo de 2005 a 2013).

Optimización de recursos. Retornos fiscales para la Administración

• La inversión media anual en los Programas de Ciencia representa el 0,15% del presupuesto del Ministerio de Economía y Competitividad de 2013 destinado a programas de investigación científica y desarrollo tecnológico y, particularmente, el 0,5% del presupuesto destinado a investigación biotecnológica en 2013. Esto denota el importante papel de la Fundación en el impulso a la investigación y a la transferencia tecnológica, con carácter complementario a la Administración, más aún en épocas de crisis en las que los poderes públicos tienden a reducir sus presupuestos en estos ámbitos.

• La actividad económica inducida por la inversión del Área de Ciencia generó unos ingresos para la Administración Pública de casi 300.000 euros por vía fiscal. Ello supone que, por cada euro de inversión de la Fundación, se produjo un retorno de 0,18 euros para la Administración Pública.

Actividad económica inducida

• El Programa de Ciencia ha potenciado la colaboración público-privada y el trabajo en red entre los distintos agentes que conforman el ecosistema de ciencia y tecnología. Como resultado, se está produciendo una estructuración de estos agentes en torno a consorcios integrados por equipos de investigación, empresas y miembros de la Administración Pública, con el fin de captar financiación procedente de fondos europeos. El éxito de estos proyectos e iniciativas puede suponer la atracción de inversión extranjera para su desarrollo, contribuyendo de forma inducida al impulso de la investigación y la transferencia tecnológica y a la dinamización económica asociada a esta actividad.

• Muestra del potencial de las ideas e invenciones respaldadas en el marco del programa es la captación de financiación pública vinculada a las NEBT, que entre 2011 y 2013 han logrado captar más de 330.000 euros. Esto supone que, por cada euro aportado por la Fundación a estas empresas, se ha logrado captar el 23% de financiación adicional procedente de fondos públicos.

Retorno del talento

• Los investigadores que participan en los equipos apoyados mantienen un vínculo con la Fundación que, en el futuro, puede producir retornos en forma de nuevas colaboraciones (presentación de ideas, candidaturas, colaboradores y agentes de referencia, etcétera), lo que permitirá aprovechar e incorporar el conocimiento adquirido a lo largo de su trayectoria profesional.

6. Enfocando el futuro. De la transferencia al intercambio

Los logros alcanzados han sido el resultado de la apuesta sostenida por un modelo claro, focalizado en el activo principal del proceso de investigación, y selectivo, con una orientación firme hacia resultados que supongan un beneficio real para la sociedad.

Refuerzan un doble convencimiento:

1. La ciencia tiene un impacto positivo real en la sociedad a la que sirve, y este impacto puede y debe ser medido y evaluado periódicamente. La evaluación llevada a cabo ha sido interiorizada y se ha incorporado como un instrumento de gestión del área.

2. El apoyo a la ciencia es un camino a largo plazo; no obstante, el Área de Ciencia materializa su soporte con una perspectiva de catalizadora, lo que permite aportar más valor a la sociedad impulsando y acelerando el proceso de transferencia tecnológica (agilizando y acortando plazos en el proceso de maduración de las ideas. Para ello se necesita dedicación, continuidad y saber hacer, ya que sin comprometer el desarrollo de las ideas se trabaja por mejorar en la eficiencia del sistema en su conjunto.

De la transferencia al intercambio. Durante su trayectoria, al Área de Ciencia de la Fundación le ha tocado vivir un importante cambio de paradigma que, de cara al futuro, supondrá impulsar, desde la perspectiva de la innovación abierta, espacios de colaboración que aceleren la puesta en el mercado de productos y servicios orientados a mejorar la salud y la calidad de vida en la sociedad. Como áreas de trabajo para impulsar y reforzar el impacto que el apoyo a la ciencia ha demostrado, se plantean las siguientes:

1. Mantener el compromiso con la valorización de la ciencia para asegurar que el conocimiento y la tecnología puedan dar lugar a nuevos productos o servicios que contribuyan al desarrollo y el progreso social y económico. Para ello, la Fundación Botín cuenta con la capacidad de su equipo para identificar las ideas y evaluarlas, siendo este el gran valor diferencial del Área de Ciencia.

2. Favorecer y reforzar el papel de las empresas como agentes fundamentales que materializan el reconocimiento de la ciencia por parte del mercado. Para conseguirlo, el establecimiento de acuerdos colaborativos potenciará la red actual de intercambio de conocimiento y talento y permitirá orientar los recursos hacia aquellos puntos del proceso de transferencia donde su papel es clave.

El modelo de trabajo de la Fundación conduce a trascender el tradicional proceso lineal invención-patente-licenciamiento-explotación, generando un esquema iterativo y multidireccional, en el que cada agente aporta lo mejor de su conocimiento, experiencia y recursos y en el que todos ganan. La investigación salva vidas, produce ahorro y genera riqueza.

Francisco Moreno
Director del Área de Ciencia

Pedro R. García Barreno
Coordinador del Programa de Ciencia

JOSÉ LUIS JORCANO NOVAL

EL CAMINO LARGO Y SINUOSO / THE BEATLES

1

Hasta donde llega mi memoria, siempre me sentí atraído por la ciencia. Aunque soy bastante olvidadizo, tengo dos recuerdos muy vívidos de mi primera juventud. Por un lado, la figura de Albert Einstein como científico arquetípico, puro, capaz de cambiar la visión del mundo a través del razonamiento, casi como un prestidigitador que saca una paloma del sombrero. Con quince años intenté entender la teoría de la relatividad, por supuesto sin conseguirlo —no sé cuánto habré progresado hasta el momento actual en este empeño—, sin embargo, la figura de Einstein, el modelo de científico que representaba, me impresionó mucho. Por otra parte, también me causó un gran impacto un libro que me regaló una tía muy querida, que se titulaba *Dioses, tumbas y sabios*, y que versaba acerca de los descubrimientos arqueológicos en Egipto, Mesopotamia y Centroamérica. El descubrimiento de la tumba «perdida» de Tutankamón gracias al inagotable empeño de Howard Carter y las maravillas allí encontradas, que tuve la oportunidad de contemplar años después en el Museo Arqueológico del Cairo hasta que el ujier me echó «a patadas» porque no me iba, me parecieron más fascinantes que una novela de Agatha Christie. ¡Y qué decir de cómo Jean-François Champollion descifró los jeroglíficos! Pura aventura. Así que supongo que nací para esto, cuestión de genética.

Soy un producto fundamentalmente de la educación pública; cursé educación básica en el colegio Jovellanos de Gijón y posteriormente hice mis estudios de bachiller en el instituto Jovellanos, también de Gijón. En una época en la que la ideología política y religiosa se trasladaba a las aulas, tuve la fortuna de que en estas dos instituciones no se hiciera un gran hincapié en este adoctrinamiento. De hecho, en el instituto Jovellanos conté con un plantel de profesores que me educaron integralmente, no solamente en los aspectos técnicos de las asignaturas que impartían, sino también en la cultura del esfuerzo, del trabajo bien hecho y de la responsabilidad. Creo que todos los que pasamos por «el Instituto» compartimos básicamente esta opinión y la de que este centro ha prestado un servicio a la sociedad gijonesa que no se le ha reconocido como realmente merece.

En los años del bachillerato superior y el preuniversitario («el preu») tuve la suerte de compartir clase con un grupo de personas que también me marcaron en muchos aspectos de mi vida; algunos de ellos forman parte de este núcleo de amigos de toda la vida que uno sigue viendo todo lo que puede sin que parezca que pasa el tiempo, como si nos hubiéramos visto ayer. De ellos aprendí mucho como persona, como joven persona: la música «moderna» y la ruptura que representaba (el *rock and roll*, los Beatles, «las melenas», Dylan...), la literatura avanzada de aquel tiempo (Sartre, Beauvoir, Marcuse...), la rebeldía ante el poder —entonces asfixiante—, el ser parte de un grupo y, por supuesto, cómo conquistar a las primeras novias... Todo esto pasó a configurar mi *Weltanschauung* y, por ello, cada vez soy más consciente de su influencia sobre mi «carrera científica».

Además, nací en el seno de una familia humilde, en una época, la de la posguerra, en la que las necesidades eran evidentes y no hacía falta que me lo mostraran o que me pidieran esfuerzo y dedicación en mis estudios, ya que las necesidades materiales eran palpables en la vida cotidiana. Creo que fui el primer miembro de la familia que fue a la universidad. Mis padres tuvieron que hacer un gran esfuerzo personal y económico para que yo pudiera estudiar; soy lo que soy gracias a ellos. También me dotaron de una serie de valores éticos, sociales y de comportamiento que marcaron toda mi vida, incluyendo la de científico. Por otro lado, nunca ejercieron ninguna presión para que estudiara determinada carrera más o menos provechosa económica y socialmente, sino que me dieron total libertad para perseguir mis intereses personales, lo cual es remarcable dado el ambiente de escasez económica. Por todo esto, es evidente que en aquella época era necesario esforzarse mucho y trabajar duro para sacar buenas notas, a ser posible matrículas de honor que abarataran los costes de la enseñanza y que me permitieran obtener becas. Por cierto, para obtener una beca era necesario obtener una nota media mucho más alta que la que en nuestro tiempo se exige. Fui capaz de cumplir este compromiso y lograr notas altas en el bachillerato; sin embargo, a pesar de ello, las asignaturas de letras no me interesaban demasiado, mientras que sí lo hacían la Física, la Química, la Geología y la Biología. Una de las cosas que ya advertí entonces, y que finalmente determinaría mi carrera científica, es que no lograba entender bien las Matemáticas: era capaz de sacar buenas notas, de cumplir con lo que me pedían los profesores, pero no de comprenderlas profundamente.

Sin embargo, no todo fue un camino de rosas. Recuerdo, por ejemplo, que en cuarto de bachiller elemental, la profesora de latín un día me dijo: «Señor Jorcano, tiene usted un cero absoluto, es decir, menos 273». Al final del curso, sabía traducir latín sin diccionario. Cuando tuve que tomar la decisión de qué carrera estudiar dudé bastante, como casi todos, en mi caso entre Física y Biología. Acabé decantándome por la Física, por una serie de circunstancias, y me fui a estudiarla a la Universidad de Zaragoza, que tenía un profesorado joven y bastante prestigioso en aquel momento. Allí hice segundo y tercero y luego me pasé en cuarto y quinto a estudiar Física Fundamental en la Universidad Complutense de Madrid, ciudad en la que tenía familia.

Tanto en Zaragoza como, sobre todo, en Madrid, participé, para desazón de mis padres, no como dirigente pero sí de una manera bastante activa, en los acontecimientos de mayo del 68 y en el posterior enfrentamiento del estamento universitario contra la dictadura franquista. Hechos que también contribuyeron en gran medida a conformar mi carácter, mi concepción del mundo y mi capacidad de compromiso con las ideas, y que también han tenido, posteriormente, su reflejo en mi manera de concebir la actividad científica. En cuarto de Física entré en contacto con la física moderna, la física atómica y nuclear, la mecánica cuántica, etcétera, y empecé a darme cuenta de que aquello no era lo mío. Por una parte, el tremendo y complejo formalismo matemático me asfixiaba, y en segundo lugar, la mecánica cuántica me parecía demasiado abstracta y alejada de mi sentido común y de los modelos en los cuales yo podía pensar con facilidad. Era, con Einstein, de los que pensaba que «Dios no juega a los dados». Por ello, decidí acabar la carrera pero tratar de introducirme en el mundo de la biología, si era posible.

Al acabar Física tuve la suerte de enterarme, no recuerdo cómo, de que en el hoy llamado CIEMAT (Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas), que en aquel momento era la Junta de Energía Nuclear (la JEN o «la Junta»), buscaban estudiantes para utilizar técnicas físicas, como la viscosimetría y la velocidad de sedimentación, para estudiar el ADN. Me cogieron y así fue como me convertí en becario, primero honorífico, es decir, sin cobrar nada, que ya los había en aquella época; más tarde, con una beca de 10.000 pesetas (¡60 euros!) al mes de la propia Junta de Energía Nuclear, y, finalmente, con un contrato de trabajo del entonces llamado IV Plan de Desarrollo, en el que me pagaban nada menos que 30.000 pesetas (180 euros) al mes, y que fue debidamente celebrado por todo lo alto. Con los factores de conversión económica de rigor, probablemente podría concluirse que ¡ya era un mileurista! Durante cinco años, a través del trabajo de fin de carrera (entonces llamado «la tesina») y de la tesis doctoral, entré en contacto con la ciencia experimental, con el método científico, con el mundo de escribir artículos, de leer revistas de investigación, etcétera. Tuve la ventura de que mi tutor fuera Francisco Mingot, alias Paco, un joven científico, también físico y gijonés, al que debo en buena medida haberme dedicado a la ciencia. Él me enseñó a ser un experimentalista riguroso, a ser creativo, a discutir mis ideas con los demás, a escribir científicamente y a tener una visión entusiasta y apasionada de la ciencia. Además, en momentos personal y laboralmente muy difíciles, que los hubo, siempre me apoyó.

Al terminar mi tesis en la JEN en 1976, tuve que enfrentarme a mi primera gran encrucijada, no podía continuar allí y tenía que plantearme a dónde ir. Nuestro laboratorio practicaba una política de poca comunicación externa y, por lo tanto, no tenía muchos contactos ni una idea clara de cuál era la carrera de un investigador. A través de amigos de mis padres, tuve la fortuna de poder tener una reunión con Margarita Salas, que trabajaba en el recién creado Centro de Biología Molecular del CSIC, quien me indicó que muchos científicos jóvenes se iban a realizar periodos posdoctorales en centros de investigación extranjeros.

En aquella época yo ya tenía un noviazgo —no sé si ella estará de acuerdo en esto— con una chica que acabó siendo, y sigue siendo, mi esposa, que era de madre española y de padre berlinés y que vivía en Berlín. Aunque entonces la mayor parte de los jóvenes científicos interesados por la Biología se iban a institutos americanos o ingleses, yo, gracias a mi relación con mi mujer, decidí irme a Alemania. Tuve la suerte de obtener becas, primero de la EMBO y luego de la Sociedad Max Planck, y pude trabajar en un centro de lo que hoy en día llamamos «excelencia científica»: el Instituto Max Planck de Genética Molecular de Berlín, donde estuve tres años. Además, me pagaban 2.000 marcos al mes, unos 725 euros, una fortuna comparado con España; claramente, «estábamos progresando». Hablando muy poco inglés —en mis tiempos se estudiaba francés en el instituto— y prácticamente sin saber alemán, me fui a Berlín. Cuando recuerdo todo esto, pienso que debía de ser un inconsciente y que, por otra parte, nuestros estudiantes y jóvenes científicos están infinitamente mejor equipados que nosotros para emprender esta aventura que a todos les recomiendo: salir a formarse a otros países.

Ciertamente, aunque no todo lo que desearíamos, nuestro país ha mejorado notablemente su sistema científico en las últimas décadas. Esperemos que los recortes impuestos

al amparo de esta casi eterna crisis económica que nos asola no nos hagan retroceder demasiado.

En el Max Planck pronto me di cuenta de dos cuestiones: de lo poco que sabía y de que tenía que trabajar muy duro para poder labrarme un camino fuera de España que quizá me permitiera retornar algún día. Aunque no tenía una idea clara de cuánto tiempo iba estar en Alemania, la mayor parte de los posdoctorados solamente se prolongaban durante dos o tres años fuera de España y luego se regresaba. Yo estuve casi doce años. En Berlín di un paso hacia una investigación más relacionada con la Biología, trabajé en la estructura de la cromatina, fundamentalmente en la estructura de los nucleosomas, que en aquella época era uno de los campos calientes en Biología; de hecho, Aaron Klug, a quien conocí personalmente y en cuyo laboratorio estuve a punto de trabajar, ganó en 1982 el Premio Nobel de Química por proponer la estructura hoy vigente de los nucleosomas. Este trabajo me permitió entrar en contacto con el mundo y las técnicas de las proteínas y de sus interacciones con el ADN. También me posibilitó estar en un centro cuya política era la de atraer a científicos jóvenes y prometedores con los que tuve el privilegio de colaborar. Por ejemplo, Ken Timmis, que fue uno de los creadores de los plásmidos, y ello me permitió ser una de las primeras personas que pudo utilizar este tipo de moléculas; o a Günther Schütz, que luego desempeñó un papel muy importante en la Biología Molecular alemana y con el que me volví a encontrar más tarde, en Heidelberg; o compañeros de mi grupo de trabajo, como Manolo Perucho, que sería uno de los codescubridores de los oncogenes; o Pere Puigdomènech, que destacaría brillantemente en la biología catalana y española. Así pues, en Berlín entré en contacto con lo que era la ciencia competitiva, con la presión por publicar en revistas de lo que actualmente llamamos alto impacto y logré situarme en lo que en aquel momento era la frontera de la investigación en Biología. Tras tres años, tuve la oportunidad de continuar mi formación posdoctoral en Estados Unidos y en Canadá, pero finalmente decidí quedarme en Alemania, al recibir una buena oferta para irme a trabajar a otro centro de excelencia, el Instituto Max Planck de Biología en la ciudad de Tubinga, que además estaba en un entorno donde había otros tres centros Max Planck. Aquí di un paso más para comprender mejor la complejidad de los sistemas biológicos, dado que trabajé en la estructura de los cromosomas; es decir, pasé de la estructura relativamente simple y lineal del ADN empaquetado en nucleosomas a tratar de entender las estructuras de orden superior de los cromosomas.

Durante los dos años que estuve en Tubinga me di cuenta de que el tema en el que estaba trabajando era de una terrible complejidad y de que, en aquel momento, no había técnicas para poder progresar en él, con lo cual decidí cambiar de materia. Entré en contacto con la biología molecular, que en aquel momento estaba emergiendo con fuerza. Tuve también la suerte de conocer a otra de las personas que me marcó científica y personalmente: un leonés, Ángel Alonso, que desde hacía ya bastante tiempo llevaba un grupo de investigación en el Centro Alemán de Investigaciones Oncológicas (el DKFZ) de la ciudad de Heidelberg. Ángel se interesaba por descubrir la función de los *small nuclear RNAs* (snRNAs), misteriosas moléculas RNA, recientemente descubiertas, que no codificaban proteínas y que hoy sabemos que son las que llevan a cabo nada menos que la función del *splicing*, el procesamiento de los intrones de los mRNAs de los eucariotas.

Gracias a esta colaboración y a la generosidad de Ángel, que me acogió en su laboratorio, aprendí las técnicas básicas de Biología Molecular: trabajar con RNA, cDNA, clonar e identificar genes, secuenciarlos, etcétera.

Estos conocimientos, y el gran contacto científico y la amistad que había desarrollado con Ángel, fueron los que me permitieron dar mi siguiente paso, que fue probablemente el que más profundamente marcó mi carrera científica: mi incorporación al grupo de Werner Franke en el DKFZ, que entonces estaba trabajando muy activamente en el campo de los filamentos intermedios, y en particular en las queratinas, tercer sistema citoesquelético de las células eucariotas, que hacía poco tiempo que había sido descubierto, y que era uno de los campos candentes en aquel momento en Biología.

Mi época en el DKFZ fue de una gran productividad. Se trataba de un gran centro, en tamaño y calidad, muy bien financiado, donde se podía encontrar expertos con los que colaborar en las más variadas y punteras tecnologías. El propio grupo de Franke era muy grande (unas sesenta personas) y tenía todas las técnicas necesarias para el análisis de proteínas y de células. Y él era un gran biólogo celular amén de una persona con un gran poder «político» en el mundo de la ciencia. Vamos, un *Panzer* alemán. Es decir, era un lugar en el que aprender mucho y rápido y, si se quería trabajar, ser muy productivo. Y yo quería trabajar y aprender, me encantaba el trabajo que hacía y las facilidades de que disponía, por primera vez tenía mi propio grupo de trabajo, estaba maduro para ello y, dentro del tema de trabajo, Franke me daba bastante libertad. Así que logré una gran productividad y publiqué en las mejores revistas de Biología. Y pude experimentar de primera mano lo que significaba trabajar en un grupo líder mundial en un campo.

Por otra parte, Heidelberg era una ciudad muy agradable para vivir y de una gran vida cultural. Teniendo en cuenta la gran actividad científica de su universidad y que los laboratorios de la EMBO se encontraban muy cerca, era un sitio ideal para vivir y trabajar en Biología Molecular y Celular. Así que, a pesar de ser una época personalmente muy dura, debido a que mi entorno familiar más directo sufrió una cadena de enfermedades extremadamente graves, la recuerdo como la mejor de mi vida. Como remate, poco antes de volver a España, nació allí mi único hijo.

Curiosamente, la primera oferta que Franke me hizo fue clonar los genes de los RNA ribosomales, cuestión que no me atraía nada. Fue Ángel quien me lo propuso: «Dile que quieres clonar los genes de las queratinas, es un tema muy caliente». Y Franke contestó a mi propuesta: «Tres personas cualificadas de mi grupo lo han intentado en los últimos dos años sin éxito, ¿por qué ibas a lograrlo tú?». Le contesté: «Bueno, solo soy un *post-doc*, no arriesgas tanto, déjame trabajar solo y ya te pasaré la factura si lo logro». Con la ayuda de Ángel lo logré en menos de un año, y esto cambió el rumbo del laboratorio, ya que, desde ese momento, además de con proteínas, éramos capaces de trabajar con ácidos nucleicos. Esto demuestra que, a pesar de las deficiencias existentes en nuestras universidades y en nuestro sistema de investigación, que ciertamente deberíamos subsanar, los españoles no tenemos que envidiar nada a nadie, cuando caemos en un sitio con medios y bien organizado somos capaces de competir como los mejores.

En colaboración con mi ya gran amigo Ángel Alonso, en cuyo laboratorio trabajé antes de tener el mío propio —esta fue la factura que Franke tuvo que pagar—, estudié la secuencia, estructura, función y expresión específica de tejido, así como su relación con diversas enfermedades humanas, de la superfamilia de genes de las queratinas (unos sesenta miembros, todos ellos emparentados por su secuencia, pero que se expresaban de forma diferencial en los diferentes epitelios, indicando que su función probablemente tenía matices importantes en la biología epitelial), poco antes descubiertos y foco de activa investigación, como comenté. En aquellos tiempos, se trataba de un problema de gran complejidad técnica y novedad intelectual que me exigió combinar las técnicas más avanzadas de Biología Molecular y Celular de entonces y me llevó a descubrir dos aspectos fundamentales para el desarrollo de mi investigación posterior: primero, la piel como un magnífico, y muy desconocido en aquel momento, objeto de estudio experimental, y segundo, tratar de aplicar los descubrimientos básicos de biología a la generación de mejores métodos diagnósticos y terapéuticos de enfermedades humanas.

Tras casi seis años en Heidelberg, en 1986 tuve la oferta de una plaza fija en el DKFZ, lo que me hizo plantearme, por primera vez en toda esta larga estancia en Alemania, mis planes de futuro. Paradójicamente, la jugosa propuesta me hizo darme cuenta de que, si la aceptaba, ya no me movería de Alemania hasta que me jubilara o, quizás, hasta que me muriera. Por motivos estrictamente familiares —soy hijo único y debía hacerme cargo de mis padres, que estaban entrando en la vejez— y sociales —por muy bien que me encontrara en Alemania, país al que estoy enormemente agradecido por todo lo que tan generosamente me ofreció, me sentía extranjero— empecé a plantearme el retorno. Tras consultárselo a mi esposa, cuyo cincuenta por ciento de genes españoles le facilitó aceptarlo, decidimos volver a España y, al mismo tiempo, hacer el mejor de mis experimentos, antes de que se nos acabara de pasar el arroz: tener a nuestro hijo.

Por aquella época, amigos del «Spanish Club» de Heidelberg, que provenían del CSIC, me avisaron de que se abría una convocatoria de plazas en esa institución, a la que podía concurrir. Me presenté a la categoría de «Investigador» y obtuve la plaza. Pronto descubrí que esto solo me garantizaba un sueldo, que para cubrir el resto de mis necesidades como investigador (espacio y equipamiento de laboratorio, doctorandos, técnicos, etcétera) tenía que «buscarme la vida», es decir, lograr que algún amigo me cediera un poco de espacio en su laboratorio y cuestiones similares. Entonces, conversaciones informales que había venido manteniendo con la antigua Junta de Energía Nuclear, ahora reconvertida en el CIEMAT, cuajaron en una oferta de contrato para que me hiciera cargo y potenciara la actividad del laboratorio en el que había realizado mi tesis doctoral, ahora llamada Unidad de Biología Molecular. Aunque las biologías molecular y celular modernas estaban muy poco desarrolladas en el CIEMAT, me ofrecieron espacio suficiente, doctorandos, técnicos de laboratorio y dinero para empezar a trabajar mientras obtenía financiación externa para mis proyectos.

A pesar de que la plaza del CSIC era de funcionario y de que, a largo plazo, parecía más adecuado tratar de abrirse camino en alguno de los centros de élite del CSIC, como el Centro de Biología Molecular (CBM), en aquel momento probablemente el mejor centro español

de Biología, o en alguno de los que posteriormente se fueron abriendo (CNB, IIB, etcétera), sentí que no podía perder varios años tratando de establecerme, ya que esto me obligaría probablemente a tener que renunciar a mi tema de trabajo, muy competitivo, en el que me había ganado un cierto prestigio internacional. Así que acepté la oferta del CIEMAT. A pesar de que mi aterrizaje fue más complicado de lo esperado, incluyendo el fracaso de algunas relaciones personales de mis tiempos de doctorando, lo que me produjo una gran desazón y frustración, y de que la vida científica en el CIEMAT, como la del resto de centros españoles, distaba mucho de ser como en el DKFZ, he de admitir que el centro apoyó la investigación biológica de manera coherente a lo largo del tiempo. Propicié la investigación en esta área, de modo que, actualmente, la unidad inicial ha dado lugar a dos divisiones, en las trabajan unas cien personas haciendo ciencia competitiva en ámbitos tan estimulantes como la Terapia Génica o la Medicina Regenerativa. Y algunas de las personas que tutelé, o directamente formé, son ahora los jefes y reconocidos científicos que lideran estas investigaciones. De una de estas divisiones (la de Biomedicina Epitelial) sigo siendo el jefe. En el momento presente, esta división cuenta con dos unidades (Medicina Regenerativa y Modelos de Enfermedades Cutáneas) lideradas por dos personas de sólida carrera científica y alto reconocimiento nacional e internacional: los doctores Marcela del Río y Fernando Larcher, respectivamente.

En este periodo, el interés de mi laboratorio pasó a centrarse en la función de las queratinas en los procesos de proliferación y diferenciación, tanto normal como patológica, de los epitelios y, en particular, en la piel. Nuestro grupo adquirió reconocimiento internacional como pionero y líder en la aplicación de las biologías molecular y celular y la generación de modelos transgénicos para el estudio de la piel y las enfermedades cutáneas. Identificamos los elementos reguladores de la expresión de varios genes de queratinas, que permitieron dirigir la expresión de genes de interés hacia tipos celulares precisos de la piel y otros epitelios estratificados en ratones transgénicos, tanto de manera constitutiva como inducible. Muchos laboratorios de todo el mundo nos han solicitado estas regiones reguladoras para su uso. Nuestro propio laboratorio ha generado más de cuarenta líneas transgénicas encaminadas a investigar el papel de factores de crecimiento y sus receptores (por ejemplo, IGF-1, IGF1-R, EGFR), factores angiogénicos (por ejemplo, VEGF), moléculas del ciclo celular (por ejemplo, E2F-1, ciclina D1), hormonas y receptores hormonales (por ejemplo, leptina o el receptor de glucocorticoides), moléculas relacionadas con la inflamación (miembros de la vía NF-kB), oncogenes y genes supresores de tumores (por ejemplo, PTCH, Ha-Ras, Akt) en la homeostasis y tumorigénesis de la piel. También hemos generado y distribuido ampliamente animales transgénicos que expresan de forma constitutiva o inducible la recombinasa Cre en piel, lo que permite la activación/desactivación de genes, de manera específica en este tejido.

Posteriormente, con la creación de la División de Biomedicina Epitelial a partir de la Unidad de Biología Molecular, aprovechando la extensa experiencia en investigación básica adquirida en piel, nuestro laboratorio se orientó hacia una investigación más traslacional: el desarrollo de terapias innovadoras (celulares, tisulares y genéticas) para el tratamiento de enfermedades cutáneas, en particular las relacionadas con la cicatrización (quemados extensos, úlceras crónicas [vasculares, diabéticas, de presión]) y, posteriormente, el

diagnóstico y tratamiento de enfermedades genéticas raras de la piel (epidermolisis). En colaboración con el doctor Álvaro Meana, del Centro Comunitario de Sangre y Tejidos de Asturias (CCST-PA), desarrollamos un nuevo sistema de cultivo y expansión in vitro de piel humana. A partir de una pequeña biopsia (1-2 cm^2), se obtienen en el plazo de tres semanas 2 m^2 de piel, lo que permite cubrir la superficie corporal de una persona. Con este producto, originalmente diseñado para el tratamiento de quemados extensos, han sido tratados más de 150 de estos pacientes en las unidades de grandes quemados más importantes de España, siendo la pionera la del Hospital Universitario de Getafe. Lograr salvar la vida de los primeros pacientes supuso una gran satisfacción y darme cuenta de que tantos esfuerzos, míos y de mis colaboradores, más allá de para hacer buena ciencia, «servían para algo». Cabe destacar que la colaboración con Álvaro supuso otro hito en la evolución de mi carrera científica. Siendo médico, él tiene muy claro las necesidades de los pacientes y cómo desarrollar productos que sean de utilidad terapéutica; es decir, fue fundamental para ayudarnos a dar el paso de la investigación básica a la traslacional.

En colaboración con Álvaro Meana y su equipo del CCST-PA, y de varios hospitales, hemos aplicado estos cultivos a otras patologías cutáneas de alta prevalencia y coste hospitalario, como las úlceras crónicas vasculares y diabéticas: más de cien pacientes han sido tratados en ensayos de tipo compasivo. Por otra parte, la Unidad de Medicina Regenerativa de nuestra División, bajo la dirección de la doctora Del Río, está aplicando estos cultivos, y otras variantes nuevas de ellos, al tratamiento de pacientes de epidermólisis ampollosa distrófica, en colaboración con la asociación de pacientes (DEBRA España). Aunque de momento son solo paliativos, a la espera de que nuestras investigaciones en marcha nos permitan la corrección del defecto genético, poder mejorar con nuestra «piel bioingenierizada» la calidad de vida de los pacientes con esta terrible enfermedad, sobre todo la de los niños, es también un gran motivo de satisfacción.

Además, hemos licenciado la patente de este producto, primero a la empresa Cellerix (ahora TiGenix), y más recientemente a BioDan, que ha obtenido autorización de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) para la producción comercial y distribución a hospitales tanto de piel como de epitelio oral, ambos autólogos, para su utilización en varios tipos de tratamiento: grandes quemados, heridas con pérdida de sustancia, defectos y reconstrucciones cutáneas, cirugía maxilofacial y reconstrucciones del aparato genitourinario. Parece que seremos unos de los primeros, en Europa y en el mundo, en lograr llevar al mercado un producto de ingeniería tisular, lo que demuestra que, a pesar de las difíciles condiciones que existen en nuestro país para la creación de empresas de base tecnológica, esto es posible y esperemos que cada vez más frecuente, en ello nos va nuestro futuro.

Por otra parte, estos cultivos organotípicos, si se hacen a partir de células de pacientes con enfermedades cutáneas, al trasplantarlos a ratones inmunodeficientes, reproducen fielmente la enfermedad del paciente de procedencia. Esto ha permitido a nuestro laboratorio, bajo la dirección del doctor Fernando Larcher, desarrollar múltiples modelos de ratones humanizados en su piel para diversas enfermedades cutáneas humanas, como varios tipos de epidermólisis, ictiosis lamelar, síndrome de Netherton, xeroderma

pigmentoso, esclerodermia y psoriasis. Estos animales, aunque complejos de desarrollar, son los mejores modelos preclínicos humanos hoy en día y constituyen una magnífica plataforma en la que diseñar y ensayar nuevas terapias, generalmente de tipo tisular o genético, pero también nuevos medicamentos, antes de que se autorice su paso a pacientes, por lo que nos son continuamente solicitados por laboratorios nacionales y extranjeros.

Evidentemente, nuestra investigación está financiada en gran medida por fondos públicos nacionales o internacionales (Plan Nacional, UE, NIH, etcétera) y, en menor medida, por empresas privadas, casi siempre multinacionales farmacéuticas. Sin embargo, la transición descrita de una investigación básica a otra mucho más traslacional fue posible gracias a que nuestro laboratorio fue financiado, de forma muy generosa y flexible, por la Fundación Botín durante varios años. Esto nos permitió poder contar con el personal, el equipamiento y los materiales fungibles necesarios para afrontar proyectos de una ambición mucho mayor. Por si esto fuera poco, gracias a esta iniciativa de la Fundación Botín, conocí al profesor Pedro García Barreno, que era su director. Con él he compartido desde entonces muchas ilusiones y frustraciones, pudiendo siempre contar con su apoyo, experiencia y opinión, esta siempre sincera pero no necesariamente halagüeña para mis oídos, lo cual es particularmente valioso.

De julio de 2002 a mayo de 2009, tras meditarlo mucho por las consecuencias que implicaba, mi actividad científica sufrió una notable alteración al aceptar el cargo de director general de la Fundación Genoma España. Genoma España, la Fundación para el Desarrollo de la Investigación en Genómica y Proteómica, fue creada en 2002 por los Ministerios de Salud y Consumo y de Ciencia y Tecnología como una reacción a la evidencia de que la recientemente publicada secuencia del genoma humano iba a suponer un gran cambio tecnológico y conceptual en el desarrollo de la biología y la medicina. Tenía como objetivo promocionar y facilitar en nuestro país las investigaciones de índole genómico y proteómico, y de la biotecnología en general, con el fin de mejorar la salud y la calidad de vida de los ciudadanos. Este tipo de investigaciones requería hacer posible el acceso de nuestros investigadores a tecnologías muy nuevas, caras y de rápido recambio, así como la organización y financiación de proyectos multidisciplinares, casi siempre multinacionales, de alto presupuesto y siempre orientados a la generación de valor económico y social, además de buena ciencia.

Como muestra de la importancia que se le concedía, el patronato de Genoma España estaba presidido por los ministros de Sanidad y Consumo y de Ciencia y Tecnología, y entre sus patronos figuraban los secretarios de Estado de ambos ministerios, el presidente del CSIC, el director del Instituto de Salud Carlos III, así como representantes del Ministerio de Industria, Turismo y Comercio, del de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino y cinco comunidades autónomas. Es decir, había que andarse con pies de plomo. También formaba parte del patronato Antoni Esteve, a la sazón presidente de Laboratorios Esteve, quien en todo momento me brindó un apoyo científico-técnico y personal extremadamente valioso. Fui el responsable de poner en marcha la fundación desde su constitución. Contaba con un personal altamente cualificado de unas veinticinco personas y gestionaba un presupuesto aproximado de 20 millones de euros anuales, de los cuáles, 11,5 provenían de su patronato

y el resto eran recursos obtenidos por la fundación. Durante los casi siete años como director, la fundación llevó a cabo una intensa labor encaminada a constituirse en un útil instrumento científico-tecnológico en el ámbito de la genómica y sus aplicaciones biotecnológicas, actuando como catalizador y nexo de unión entre todos los actores del sistema (gobierno, comunidades autónomas, grupos de investigación, empresas, capital privado y sociedad civil).

Entre sus principales logros, se encuentran:

- Puesta en marcha de once grandes proyectos multidisciplinares de cooperación público-privada y dimensión internacional en las áreas de salud (cinco proyectos), agroalimentación (cuatro proyectos), bioenergía (un proyecto) y acuicultura (un proyecto), con una inversión total de más de 32 millones de euros.

- Creación de cuatro plataformas científico-tecnológicas (Centro Nacional de Genotipado, Banco Nacional de ADN, Instituto Nacional de Bioinformática e Instituto Nacional de Proteómica).

- A través de su programa de Cartera Tecnológica: creación de trece *spin-off* (2,8 millones de euros invertidos y más de trece millones de euros de capitalización externa obtenidos), financiación de más de ciento veinte solicitudes de patentes; evaluación de más de doscientas propuestas de valorización, de las cuales se han apoyado económicamente treinta y una, y que han generado diecinueve patentes, veinticinco empleos y desarrollado dieciocho nuevos productos o tecnologías.

- A través del Programa de Formación de Bioemprendedores: se formaron ciento setenta y siete bioemprendedores, de los cuales ciento cuarenta y tres generaron un Plan de Negocio y crearon sesenta y cinco nuevas empresas biotecnológicas.

- Publicación de más de treinta estudios e informes estratégicos, de prospectiva tecnológica, vigilancia tecnológica, divulgación, etcétera.

- Ayuda a la internacionalización a más de ciento cincuenta empresas.

Todos estos logros llevaron a que Genoma España fuera considerada como «la entidad que más activamente apoya y promueve la biotecnología en España».

Aunque esta actividad requirió reorientar mi actividad científica, me permitió desarrollar un profundo conocimiento del sistema ciencia-tecnología-empresa en el campo de la biomedicina y la biotecnología, en el ámbito nacional e internacional.

Tras mi reincorporación al CIEMAT, en 2010 me presenté a una convocatoria pública de la Universidad Carlos III de Madrid (UC3M). El motivo de esta era la organización y puesta en marcha de un nuevo grado en Ingeniería Biomédica con tres especialidades, una de las cuales era Ingeniería Tisular. Se solicitaba atraer a grupos de investigación consolidados

en el campo, que aportaran su experiencia y solvencia a la UC3M. Se presentaron más de sesenta personas de diferentes países y el proceso de selección estuvo dirigido por un comité del que formaban parte prestigiosos científicos españoles y estadounidenses del campo de la biomedicina y la bioingeniería. Obtuve la primera posición en la lista de selección. En febrero de 2011, me incorporé al recientemente creado Departamento de Bioingeniería e Ingeniería Aeroespacial de la UC3M, como profesor visitante, en compañía de varios miembros de la División de Biomedicina Epitelial del CIEMAT.

El CIEMAT y la UC3M firmaron un acuerdo que nos permite seguir desarrollando nuestra actividad científica en el primero, gracias a la creación de la Unidad Mixta de Investigación UC3M-CIEMAT de Ingeniería Biomédica, que actualmente dirijo. Pero más allá de esta utilidad directa, el objetivo último de este acuerdo es desarrollar proyectos y programas de investigación científica, desarrollo e innovación tecnológica en el campo de la Ingeniería Biomédica, creando sinergia entre las instalaciones y las capacidades de ambas instituciones, en particular promoviendo la colaboración entre ingenieros e investigadores biomédicos, en consonancia con la tendencia imperante en estos momentos en los países tecnológicamente más avanzados de crear equipos multidisciplinares para abordar con más éxito los complejos problemas que plantea la biomedicina. Esto me ha llevado a una postrera evolución de mi carrera científica que me permite en cierto modo retornar a mis orígenes como físico y así cerrar el círculo.

En colaboración con ingenieros de la Escuela Politécnica de nuestra universidad, con miembros de las Universidades Politécnica y Complutense de Madrid y con bioingenieros de la Universidad de California en San Diego, una parte de mi equipo se ha embarcado en dos tipos de proyectos. Los del primer tipo son muy tecnológicos. Por una parte, hemos desarrollado un prototipo de bioimpresora 3D para la automatización, la estandarización y el abaratamiento de la producción de piel —actualmente en fase de patente y publicación—, que esperamos extender a la bioimpresión de otros tejidos. Por otro lado, estamos interesados en el desarrollo de microbiosensores y otros sistemas de detección que permitan obtener, de manera mínimamente o nada invasiva, parámetros del funcionamiento fisiopatológico de la piel.

Los proyectos del segundo tipo son de carácter más básico y se enmarcan en el ámbito de lo que se denomina la ingeniería bioinspirada o biomimética. Por una parte, combinando nuestra experiencia biológica en piel con técnicas de microfluídica y de microfabricación, similares a las que se usan para construir los microchips de nuestros ordenadores y teléfonos móviles, siguiendo la estela de algunos centros pioneros, estamos produciendo microsistemas denominados «tejido-en-un-chip» (en nuestro caso, «piel-en-un-chip»). Estos sistemas prometen permitir el análisis y la monitorización paralela de un alto número de estos microdispositivos para comprender mejor el funcionamiento normal y las patologías de la piel humana y, sobre todo, su respuesta a nuevos fármacos, problema este último de gran interés para la industria farmacéutica, ya que las pruebas realizadas en animales llevan con alta frecuencia a resultados que no se reproducen en humanos.

Por otra parte, estamos altamente interesados en entender la función que desempeñan las fuerzas mecánicas en el desarrollo y el funcionamiento de nuestros tejidos y órganos.

A pesar de que la descripción actual del funcionamiento de nuestras células y tejidos es esencialmente de naturaleza genética y bioquímica, recientemente hemos empezado a comprender que, en el funcionamiento de los tejidos vivos, las fuerzas intercelulares y las tensiones internas (intracelulares) a que estas dan lugar tienen un papel central a la hora de regular no solo la proliferación (división celular), sino también la diferenciación, la migración y la apoptosis (muerte celular programada) celular. A pesar de su importancia, los mecanismos que generan la respuesta bioquímica de las células a estas fuerzas mecánicas siguen siendo poco conocidos. Esto se debe, entre otras razones, a la falta de métodos adecuados para medir con precisión las fuerzas celulares en tejidos tridimensionales con alta resolución espacial y temporal. Y este es precisamente nuestro objetivo: utilizando técnicas de microfabricación y sofisticados cultivos tridimensionales de piel, pretendemos desarrollar nuevas metodologías experimentales y computacionales para medir la evolución temporal y espacial de las fuerzas intercelulares durante el desarrollo tridimensional de este tejido. La influencia de las fuerzas mecánicas en el comportamiento de la piel es particularmente clara. A modo de ejemplos: nuestra piel crece acompasadamente con el resto del cuerpo en buena parte gracias a que responde a la tensión mecánica que le genera el crecimiento de huesos y músculos (¡y el tejido adiposo, para los que tenemos tendencia a tenerlo!); o la piel crece acompasadamente con la barriga de las embarazadas.

Esta propuesta es muy innovadora desde el punto de vista científico, ya que podría llevar a una mejor comprensión de la patogénesis de diversas enfermedades, abriendo así las puertas a nuevos métodos diagnósticos y de tratamiento. Por decirlo sin tapujos: ¿podremos en el futuro curar con fuerzas en vez de —o junto con— medicamentos? De ser así, no habría nada conceptualmente más gratificante para un físico como yo, que primero «traicionó» a la Física para convertirse en biólogo molecular y celular, luego se interesó por aplicar sus desarrollos de ciencia básica a la solución de problemas biomédicos y, finalmente, trata de integrar sus conocimientos biomédicos con la física y la ingeniería. Sería una pasada.

Este relato puede dar la sensación de que mi transitar por la ciencia fue razonablemente tranquilo y bien planificado. No lo fue, la vida no es así. Estuvo lleno de momentos difíciles, de decisiones de consecuencias inciertas, de caminos erróneos. Pero he podido conocer a personas extremadamente brillantes y realizar un trabajo creativo y apasionante, y creo que eso es lo que siempre deseé. Como dije al principio: «Hasta donde llega mi memoria, siempre me sentí atraído por la ciencia».

Finalmente, quiero hacer patente mi agradecimiento a muchas personas, familiares, amigos, maestros, mentores y colaboradores a los que, por razones de espacio, no he podido mencionar explícitamente, aunque sin duda se reconocerán en los hechos que cuento. Lo mejor que se puede hacer en la vida es rodearse de personas más sabias y mejores que uno mismo.

Publicaciones

P. Martín-Mateos, S. Crespo-García, M. Ruiz-Llata, J. R. López-Fernández, J. L. Jorcano Noval, M. del Río, F. Larcher y P. Acedo, «Remote diffuse reflectance spectroscopy sensor for tissue engineering monitoring based on blind signal separation», en *Biomed Opt Express*, vol. 5, 2014, pp. 3231-3237.

L. Martínez Santamaría, C. J. Conti, S. Llames, E. García, L. Retamosa, A. Holguín, N. Illera, B. Duarte, L. Camblor, J. M. Llaneza, J. L. Jorcano Noval, F. Larcher, A. Meana, M. J. Escámez y M. del Río, «The regenerative potential of fibroblasts in a new diabetes-induced delayed humanised wound healing model», en *Exp Dermatol*, vol. 22, 2013, pp. 195-201.

M. García, S. Llames, E. García, A. Meana, N. Cuadrado, M. Recasens, S. Puig, E. Nagore, N. Illera, J. L. Jorcano Noval, M. del Río y F. Larcher, «In vivo assessment of acute UVB responses in normal and Xeroderma Pigmentosum (XP-C) skin-humanized mouse models», en *Am J Pathol*, vol. 177, 2010, pp. 865-872.

J. L. Jorcano Noval, «Aplicaciones preclínicas y clínicas de piel generadas a partir de células madres epidérmicas», Real Academia de Farmacia-Instituto de España, vol. 89, 2009, pp. 223-257.

F. Larcher, E. Dellambra, L. Rico, S. Bondanza, R. Murillas, C. Cattoglio, F. Mavilio, J. L. Jorcano Noval, G. Zambruno y M. del Río, «Long-term engraftment of single genetically modified human epidermal holoclones enables safety pre-assessment of cutaneous gene therapy», en *Mol Ther*, vol. 15, 2007, pp. 1670-1676.

E. Sterneck, S. Zhu, A. Ramírez, J. L. Jorcano Noval y R. C. Smart, «Conditional ablation of C/EBP beta demonstrates its keratinocyte-specific requirement for cell survival and mouse skin tumorigenesis», en *Oncogene*, vol. 25, 2006, pp. 1272-1276.

M. L. Casanova, A. Bravo, J. Martínez-Palacio, M. J. Fernández-Acenero, C. Villanueva, F. Larcher, C. J. Conti y J. L. Jorcano Noval, «Epidermal abnormalities and increased malignancy of skin tumors in human epidermal keratin 8-expressing transgenic mice», *en Faseb J*, vol. 18, 2004, pp. 1556-1558.

M. Carretero, M. del Río, M. Gartia, M. J. Escámez, I. Mirones, L. Rivas, J. L. Jorcano Noval y F. Larcher, «A cutaneous gene therapy approach to treat infection through keratinocyte-targeted overexpression of antimicrobial peptides», en *Faseb J*, vol. 18, 2004, pp. 1931-1933.

F. Serrano, M. del Río, F. Larcher, M. García, E. Muñoz, M. J. Escámez, M. Muñoz, A. Meana, A. Bernad y J. L. Jorcano Noval, «A comparison of targeting performance of oncoretroviral versus lentiviral vectors on human keratinocytes», en *Hum Gene Ther*, vol. 14, 2003, pp. 1579-1585.

M. del Río, F. Larcher, F. Serrano, A. Meana, M. Muñoz, M. García, E. Muñoz, C. Martín, A. Bernad, J. L. Jorcano Noval, «A preclinical model for the analysis of genetically modified human skin invivo», *Hum Gene Ther*, vol. 13, 2002, pp. 959-968.

JUAN A. BUEREN

CÉLULAS MADRE: ¡REGRESO AL FUTURO!

2

Introducción

Escribir sobre mi propia biografía constituye una tarea que me resulta particularmente dificultosa ya que todos los aspectos interesantes de la misma se los debo a los numerosos colegas con los que he tenido el placer de colaborar a lo largo de mis años de investigador. Sin embargo, hay dos razones que me animan a hacerlo. La primera es que, al ser esta una solicitud del profesor Pedro García Barreno —por quien profeso gran admiración y respeto—, no me es posible rechazar su petición. La segunda razón es que, tal vez a través de estas líneas, pueda reconocer el trabajo de todos aquellos colaboradores de la división que me honra dirigir, y también el de los numerosos investigadores que nos han ayudado en nuestro fascinante trabajo.

Primeros pasos en el campo de la radiobiología

Mi incorporación a la Junta de Energía Nuclear se la debo agradecer al doctor Julio Petrement, director del Departamento de Medioambiente y Protección Radiológica de la que entonces era la Junta de Energía Nuclear. Allá por el año 1979, durante mi último curso en la carrera de Farmacia, don Julio me presentó al que después sería mi director de tesis, el doctor Manuel Nieto. Desde mis primeras conversaciones con don Manuel percibí en él una muy marcada personalidad, un espíritu de búsqueda de lo desconocido, y un llamativo interés por el arte y la restauración de antigüedades. Por aquel entonces, Manuel Nieto, ayudado por un reducido grupo de investigadores, trabajaba en el campo de la radiobiología tratando de conocer, entre otros temas, en qué medida el incremento térmico que tiene lugar en los pantanos a los que fluyen las aguas de refrigeración de las centrales nucleares modificaba la cinética de generación de progenitores hematopoyéticos de los peces que las habitan. Para ello, en el sótano del edificio 7 en el CIEMAT se había instalado un amplio número de peceras para la estabulación de carpas a diferentes temperaturas, que en la mayor parte de los casos habían sido capturadas en el lago de la Casa de Campo de Madrid. Como podrá imaginarse el lector, la captura de estos animales constituía un espectáculo de interés para los paseantes del lugar.

El modelo de estudio que empecé a desarrollar en aquellos tiempos se basaba en el uso de cámaras de difusión que contenían células hematopoyéticas obtenidas del riñón de las carpas, que posteriormente eran introducidas en la cavidad peritoneal de los animales. Puesto que no era tarea fácil librarse de la contaminación de todo tipo de microorganismos durante este modelo de cultivo in vivo, optamos por un cambio de modelo experimental, el ratón, que —aunque no era fácil de justificar teniendo en cuenta que mi contrato dependía de un Plan Hispanoamericano para el estudio de la contaminación térmica de aguas

continentales— resultaba mucho más agradecido a la hora de obtener resultados con cierta repercusión.

La posibilidad de cultivar eficazmente progenitores hematopoyéticos de ratón en cámaras de difusión implantadas en su cavidad abdominal me permitió finalizar mi tesis doctoral en 1982, analizando el comportamiento de estas células ante las radiaciones ionizantes y la hipertermia, aspecto que tuvo relevancia significativa en el desarrollo de terapias antitumorales.

En 1986, la Junta de Energía Nuclear (JEN) pasó a llamarse Centro de Investigaciones Energéticas, Medioambientales y Tecnológicas (CIEMAT), nombre que perdura en la actualidad. Esto le otorgaba nuevos objetivos respecto a los que anteriormente tenía asignados. No obstante, puesto que el laboratorio de Manuel Nieto pertenecía al Departamento de Medioambiente y Protección Radiológica del CIEMAT, nuestros trabajos mantuvieron su enfoque, principalmente centrado en la respuesta de células del sistema hematopoyético a radiaciones ionizantes y otros contaminantes ambientales.

Después de trabajar durante unos años en estrecha colaboración con los doctores Bryan Lord, Jolyon Hendry y Nydia Testa, todos ellos del Instituto Paterson de Mánchester, en 1990 recibí su invitación a participar por primera vez en el proyecto de investigación de la Comisión Europea *Dysfunctions and neoplasias of haematopoietic and osteogenic tissue following external irradiation or contamination in utero or during neonatal development*, entonces del Segundo Programa Marco. Durante esos años, la Comisión Europea se mostraba interesada en el conocimiento de los efectos tardíos de la radiación sobre el sistema hematopoyético, puesto que se había descrito la aparición de episodios aislados de leucemias en algunas comarcas próximas a instalaciones de procesamientos de combustible nuclear.

Junto a este proyecto, en el que demostramos la existencia de efectos tardíos en la médula ósea de ratones de experimentación que habían sido expuestos a dosis moderadas de radiación ionizante,[1] nos integramos en un proyecto colaborativo denominado The European Late Effects Project (EULEP) entre los años 1991 y 1993, cuyo objetivo era la evaluación de los efectos a largo plazo producidos por las radiaciones ionizantes y la contaminación por radionucleidos pesados en el sistema hematopoyético.

Participamos en un proyecto entre 1992 y 1995 que llevaba por título *Dosimetry and effects of parental, foetal and neonatal exposure to incorporated radionuclides and external radiation*. A partir de entonces, la financiación para los estudios en radiobiología se limitaron a los relacionados con dosis bajas o muy bajas de radiación, con lo cual nuestros trabajos en el campo de la radiobiología de las células madre se veía seriamente comprometido.

Progresos en hematología experimental

A mediados de los años noventa del siglo xx adquirió notable repercusión social la importancia de limitar el número de animales de experimentación en la investigación biomédica, muy particularmente en estudios toxicológicos. De ahí que la progresiva optimización en el laboratorio de las técnicas de cultivo in vitro de progenitores hemato-

poyéticos[2] nos permitiera integrarnos en un programa internacional dirigido a validar el cultivo de progenitores granulo-macrofágicos (CFU-GM) como alternativa a los estudios hematoxicológicos realizados in vivo en diferentes especies animales, lo que formaba parte de la reglamentación para autorización de fármacos y otros productos químicos. Entre los años 1997 y 1999 participamos en un programa promovido por el European Centre for Validation of Alternative Methods (ECVAM) que llevaba por título *Validation of the relevance and reliability of non-animal test procedures for assessing the potential toxicity of chemicals and hematotoxic products for establishing the efficacy of hematopoietic active products*. Este proyecto nos permitió validar el cultivo in vitro de CFU-GMs para refinar los estudios in vivo exigidos por la Farmacopea Europea.[3]

Los estudios que comenzamos a realizar en el laboratorio sobre expansión ex vivo de progenitores hematopoyéticos[4] nos permitió ponernos en contacto con un investigador muy reconocido en el campo de los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes, el profesor Gerard Wagemaker. Tras una visita a nuestro laboratorio para conocer la implicación de nuestro grupo en el campo de las células madre hematopoyéticas, Wagemaker me solicitó que tratara de promover la puesta en marcha de un proyecto europeo dirigido al desarrollo de nuevas alternativas de reactivación de células madre de organismos expuestos a exposiciones accidentales o terapéuticas de radiaciones ionizantes. Así, el proyecto titulado *Novel Approaches for the Management of the Radiation Injury*, que me honró coordinar, se constituyó con investigadores del Erasmus Hospital, la Universidad de Ulm, Genopole y dos prestigiosas instituciones francesas muy implicadas en el estudio de los efectos biológicos de las radiaciones ionizantes, la Comisión Francesa de Energía Atómica (CEA) y el Instituto Superior de Protección y Seguridad Nacional (IPSN), durante los años 2002 y 2004. Durante estos años conseguimos expandir in vitro progenitores hematopoyéticos, de forma que su trasplante en animales irradiados con dosis potencialmente letales de radiación reducía significativamente el periodo de aplasia respecto a trasplantes realizados con células de médula ósea sin manipular. No obstante, no pudimos demostrar la expansión de las auténticas células madre, aspecto que sigue siendo muy discutido a pesar de la multitud de trabajos publicados en esta materia. Al ser nombrado el doctor Francisco Mingot director del Departamento de Medioambiente del CIEMAT, me animó a perseverar en las tareas de investigación realizadas en colaboración internacional, muy particularmente en la Unión Europea. Siempre he estado muy agradecido a Paco por su apoyo y consejos.

Los virus, los vectores virales y las células madre

Durante los años noventa del pasado siglo tuve la oportunidad de establecer una muy interesante colaboración con un investigador del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa con quien desde entonces he mantenido buena amistad, el profesor José María Almendral, Pepe. Durante esa época se incorporaron al laboratorio estudiantes predoctorales, como José Carlos Segovia o Guillermo Güenechea, que tras la conclusión de sus respectivas tesis doctorales y formación posdoctoral han venido siendo, junto con otros investigadores que luego mencionaré, investigadores esenciales en el grupo. Durante estos años de tanta agitación en el laboratorio, también se incorporó como investigador posdoctoral Antonio Bernad, que venía de finalizar su tesis doctoral en el Centro de Biología Molecular con la profesora Margarita Salas, en el campo de las polimerasas. Con Pepe

Almendral comenzamos a interesarnos por la interacción de los virus y las células madre. Así, a lo largo de lo que sería la tesis de José Carlos Segovia, tuvimos la oportunidad de describir por primera vez la interacción de un parvovirus, el «Minute Virus of Mice», con células madre hematopoyéticas.[5]

Durante estos años teníamos que justificar con más frecuencia de lo deseado la razón de nuestro trabajo, ya que aunque no se solía cuestionar su calidad, con frecuencia se nos criticaba el hecho de apartarnos de campos tradicionalmente más afines a la trayectoria del CIEMAT, como eran el medioambiente y la radioprotección. La llegada del profesor Félix Ynduráin como director general del CIEMAT supuso una gran estabilidad para nuestro laboratorio, puesto que la evaluación de los proyectos por parte de comités externos de valía incuestionable —en el nuestro se encontraban, entre otros, los profesores Margarita Salas y Jesús Ávila— nos ofrecía la oportunidad de concentrarnos en el trabajo sin necesidad de justificar sus objetivos de manera continuada.

La publicación por parte de los doctores Lemischka, Mulligan y Williams a finales de la década de los ochenta del pasado siglo de diferentes trabajos en los que se demostraba la inserción de genes en el genoma de células madre hematopoyéticas supuso un importante reto para nuestro laboratorio. Con ayuda de los colaboradores que acabo de mencionar, comenzamos a desarrollar una larga serie de experimentos dirigidos a transferir genes a células madre hematopoyéticas de ratón. Así, a lo largo de la tesis de Florencio Varas, leída en 1995, mostramos diferentes aspectos de la cinética y movilización de las células madre hematopoyéticas mediante técnicas de marcado genético con vectores retrovirales,[6] aproximación experimental que ya no abandonaríamos en nuestros proyectos de investigación.

Primeros contactos con la investigación de la anemia de fanconi

Poco a poco, el laboratorio fue adquiriendo experiencia en la manipulación de células madre hematopoyéticas de ratón y también humanas, las cuales conseguimos injertar en ratones inmunodeficientes, dando así un paso importante en la proyección de nuestro trabajo.[7,8] En virtud de nuestro trabajo en estas nuevas modalidades de trasplante xenogénico, fuimos invitados por la doctora Odile Cohen-Haguenauer a participar en un nuevo consorcio europeo centrado en la investigación y terapia de una enfermedad sobre la que no había oído hablar hasta el momento —la anemia de Fanconi— pero de la que ya no he podido desligarme, no solo por su interés científico, sino también por el impacto que sus pacientes y familiares despertaron en mí y en muchos otros miembros del laboratorio. En este proyecto tuvimos ocasión de conocer a investigadores del prestigio de la profesora Eliene Gluckman, que realizó el primer trasplante de células de sangre de cordón umbilical —precisamente a un paciente con anemia de Fanconi—, o al profesor Hans Joenje, descubridor de un elevado número de genes de Fanconi. Fue el propio Joenje quien me puso en contacto con otros expertos clínicos y genetistas españoles con experiencia en el tratamiento y diagnóstico de estos pacientes. De esta manera, tuve la ocasión de conocer a los doctores Juan José Ortega y Luis Madero, jefes de los Servicios de Oncohematología Pediátrica de los hospitales Vall d'Hebron y del Niño Jesús de Madrid,

y al doctor Jordi Surrallés, con quien no he dejado de mantener una estrecha y amigable colaboración desde entonces.

Aunque el proyecto europeo no rindió los resultados esperados, sí me permitió enfrentarme a una enfermedad pediátrica de mal pronóstico, en la que tal vez pudiéramos aplicar nuestro conocimiento en el campo de las células madre y la transferencia génica. En esa época ingresaron en el laboratorio diferentes estudiantes predoctorales para abordar nuevos proyectos de investigación traslacional. Entre ellos se incorporó Paula Río para desarrollar su tesis doctoral sobre un modelo preclínico de terapia génica de ratones con mutaciones en el gen *Fanca*.[9] A partir de dicha tesis, leída en 2002, nuestra vocación para lograr la terapia génica de los pacientes con anemia de Fanconi ha sido constante.

La colaboración con la Fundación Botín y el Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Raras (CIBERER)

En 2001 tuvimos la fortuna de que el profesor García Barreno, asesor científico de la Fundación Botín, mostrara interés por las actividades de nuestro laboratorio. Tras diferentes reuniones con Félix Ynduráin, director del centro, fuimos uno de los primeros grupos escogidos para poner en marcha un ambicioso proyecto que suponía un compromiso sin precedentes de una fundación privada española para promover transferencia de tecnología en el campo de la biotecnología. El trabajo en colaboración con el equipo de la Fundación Botín nos ofreció una amplitud de miras en los objetivos de nuestra investigación que nunca antes habíamos contemplado. De esta forma, de nuestro trabajo realizado con células mesenquimales adipocíticas pudimos obtener, en colaboración con la empresa Cellerix, una patente en Estados Unidos para la utilización de dichas células como terapia de la enfermedad del injerto contra el huésped, muy frecuentemente asociada al trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos.[10] Asimismo, encontramos numerosas colaboraciones con el sector tecnológico y, en definitiva, aprendimos a obtener un valor añadido muy significativo de nuestro trabajo en el laboratorio.

Como complemento al apoyo ofrecido por la Fundación Botín, en 2007 nos integramos como Institución Consorciada del CIBERER (Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Raras del ISCIII), lo que supuso un nuevo aliciente para nuestro trabajo de investigación cooperativa, no solo en el campo de la anemia de Fanconi, sino también en otras enfermedades que luego mencionaré.

Gracias al apoyo de la Fundación Botín y del CIBERER, sumado a las facilidades y confianza que nos han venido concediendo diferentes equipos directivos del CIEMAT —incluyendo a los profesores Félix Ynduráin, César Dopazo, Juan Antonio Rubio y actualmente Cayetano López— pudimos reincorporar a parte del personal investigador que se había formado en nuestro laboratorio, así como también a nuevos investigadores de otros centros, con lo que tuvimos la oportunidad de crear un equipo multidisciplinar de investigadores sénior, entre los que actualmente se incluyen Elena Almarza, José Antonio Casado, Óscar Quintana, María García-Bravo, Marina Garín, Guillermo Güenechea, Mercedes López-Santalla,

Maruja Lamana, Susana Navarro, Paula Río, José Carlos Segovia y Rosa Yáñez. Disponer de semejante equipo investigador y la posibilidad de contratar un equipo técnico muy especializado y personal en formación predoctoral nos posicionó en una situación inigualable para poner en marcha grandes proyectos de investigación biomédica a los que nunca podríamos haber tenido acceso de no contar con todo este apoyo.

La puesta en marcha de la red española de investigación en anemia de Fanconi y los proyectos europeos sobre terapia génica y reprogramación celular

El conocimiento progresivo de otros equipos de investigación también interesados en la puesta en marcha de un ambicioso proyecto en el campo de la anemia de Fanconi nos animó a organizar el 10 de noviembre de 2001 en el CIEMAT la primera reunión sobre investigación en anemia de Fanconi.

Como invitado de honor asistió el profesor Manuel Buchwald, que descubrió en 1992 el primer gen de Fanconi, el gen *FANCC*, mediante técnicas de fusión celular y complementación génica. Con motivo de esta reunión, en 2002 decidimos presentar al Programa de Redes de Investigación Cooperativa del ISCIII un proyecto de investigación titulado *Aplicaciones de la biología molecular y celular al diagnóstico y tratamiento de enfermos con Anemia de Fanconi*. Dicho proyecto estuvo inicialmente coordinado por el doctor Madero y en 2006 por mí, y constituyó el inicio de una red de investigación que desde entonces no ha dejado de funcionar muy activamente. El proyecto tenía como objetivo que los pacientes españoles con anemia de Fanconi recibieran el mejor tratamiento que cualquier paciente con esta enfermedad pudiera recibir en cualquier parte del mundo, y que en los laboratorios de la red se desarrollara la mejor investigación preclínica y clínica que se pudiera plantear. El proyecto contemplaba la cooperación con las familias de afectados por la anemia de Fanconi, a quienes animamos a constituirse en asociación, y que hoy en día forman una de las asociaciones de anemia de Fanconi con mayor repercusión internacional (www.asoc-anemiafanconi.es).

Con motivo de una acción de Genoma España para financiar un reducido número de proyectos sobre enfermedades raras, desarrollamos entre los años 2007 y 2011 el proyecto *Application of Modern Biology in the Development of Improved Diagnostic Tools and More Efficient Therapies for Patients with Mutated Fanconi Anemia/BRCA Genes* (FANCOGENE) y en el que, además del CIEMAT, participaron el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), la Clínica Universitaria de Navarra, el Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, el Hospital Niño Jesús, la Universidad Autónoma de Barcelona, el Instituto Catalán de Oncología, la Asociación Española de Anemia de Fanconi, Pharmamar y la Fundación Botín. Con este proyecto se afianzaba la actividad investigadora traslacional española en anemia de Fanconi.

Con relación a nuestras colaboraciones europeas, entre 2004 y 2008 formamos parte del proyecto europeo del FPVI titulado *Concerted Safety and Efficiency Evaluation of Retroviral transgenesis in Gene Therapy of Inherited Diseases* del Programme of Life Sciences, Genomics and Biotechnology for Health (CONSERT) coordinado por el doctor Gerard Wagemaker, y centrado en la

terapia génica de enfermedades monogénicas de la sangre. Durante este proyecto tuvimos la ocasión de presenciar los primeros éxitos de la terapia génica de inmunodeficiencias severas combinadas X1-SCID y ADA por parte de los equipos de los doctores Alain Fisher y Marina Cavazzana en el Hospital Necker de París, del doctor Adrian Thrasher en el University College London y de los doctores Luigi Naldini y Alessandro Aiuti en el Instituto San Raffaele de Milán; así como también la generación de las primeras leucemias linfocíticas en algunos de los pacientes X1-SCID que se habían tratado por terapia génica. Fueron años difíciles para la terapia génica en Europa y en el resto del mundo ya que, como consecuencia de los efectos secundarios asociados al proceso de mutagénesis insercional, la investigación en terapia génica dejó de considerarse como prioridad por parte de numerosas agencias financiadoras de investigación.

Como continuación del Proyecto CONSERT, durante 2008 y 2009 fuimos también invitados a participar en el proyecto *Persisting Transgenesis* (PERSIST; FPVII) coordinado por el profesor Luigi Naldini, del Instituto San Raffaele de Milán, que durante su época de investigador posdoctoral en California había desarrollado, junto con el doctor Didier Trono, los primeros vectores lentivirales derivados del virus VIH-I. A diferencia de los vectores gamma-retrovirales, estos vectores poseían capacidad para transducir de manera estable no solo en células en división, sino también en células quiescentes, como las células madre hematopoyéticas. En un modelo de investigación cooperativa, en pocos años investigadores de estos dos consorcios demostraron que la causa por la que se habían generado las leucemias en los pacientes SCID-X1 radicaba en dos aspectos característicos de los vectores gamma-retrovirales: su elevada capacidad de transactivación de genes adyacentes, y su preferencia de integración en las proximidades del inicio de transcripción de genes.

Durante el progreso de estos dos proyectos, nuevos vectores gamma-retrovirales y lentivirales se fueron desarrollando para el tratamiento de diferentes enfermedades monogénicas de la sangre, lo que nos permitió trasladar este conocimiento a nuestro laboratorio. Así, durante el desarrollo de la tesis doctoral de África González, actualmente en el Hospital del Niño Jesús de Madrid, generamos una familia de vectores lentivirales más eficaces y seguros dirigidos al tratamiento de la anemia de Fanconi11. En 2010, uno de estos vectores obtuvo la designación de Medicamento Huérfano por parte de la Comisión Europea, lo que nos facilitó enormemente la búsqueda de recursos para el desarrollo de un ensayo clínico de terapia génica para pacientes con anemia de Fanconi del subtipo A.

El esfuerzo realizado por la Red Española de Investigación en anemia de Fanconi me fue reconocido por la Fanconi Anemia Research Foundation (FARF), que en octubre de 2011 me concedió el Distinguished Service Award por el compromiso con la investigación y la creación de un entorno científico cooperativo en el campo de la anemia de Fanconi.

Poco tiempo después de que el profesor Shin'ya Yamanaka publicara sus resultados sobre reprogramación celular, recibí una llamada del profesor Juan Carlos Izpisúa desde el Instituto Salk, haciéndome saber que el doctor Ángel Raya y sus colaboradores en el Centro de Biología Medicina Regenerativa de Barcelona (CMRB) habían conseguido también repro-

gramar células diferenciadas y generar así células inducidas pluripotentes, de fenotipo similar al de las células embrionarias. Puesto que la causa por la cual los pacientes con anemia de Fanconi desarrollan aplasia medular radica en la pérdida progresiva de células madre hematopoyéticas en su médula ósea, pensamos en la posibilidad de que el acoplamiento de las técnicas de reprogramación celular y la terapia génica tal vez permitiera generar células sanguíneas sanas a partir de células reprogramadas de la piel. A través de una estrecha colaboración entre el CMRB, el CIEMAT y la Universidad Autónoma de Barcelona, tuvimos la oportunidad de demostrar por primera vez la generación de células de la sangre sanas a partir de la piel de pacientes con una enfermedad genética.[12]

Como complemento a este trabajo, muy recientemente —en colaboración con el equipo del profesor Naldini— hemos demostrado que nuevas aproximaciones de terapia génica dirigida y reprogramación celular nos permitían generar células sanguíneas libres de enfermedad, pero en esta ocasión mediante la inserción del gen terapéutico en una región definida del genoma, minimizando así los riesgos de mutagénesis insercional.[13]

Implicaciones del desarrollo de un Medicamento Huérfano, la fomación de la Unidad Mixta de Terapia Celular con el Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz y otras actividades de la división

La designación de Medicamento Huérfano al vector desarrollado en el laboratorio y el trabajo realizado por la Red Española de Investigación en anemia de Fanconi nos permitieron obtener financiación para la puesta en marcha dos proyectos de investigación íntimamente relacionados, dirigidos a abordar la terapia génica de pacientes con anemia de Fanconi. Estos dos proyectos financiados con cargo al programa de investigación clínica independiente del Ministerio de Sanidad y liderados por los doctores Cristina Díaz de Heredia (Hospital Vall d'Hebron) y Julián Sevilla (Hospital del Niño Jesús) dieron pie a la externalización de nuestro protocolo de terapia génica. Así, además de contar con los investigadores de la Red Española, contamos con la participación de investigadores con experiencia acreditada en el desarrollo de ensayos clínicos de terapia génica, como los doctores Adrian Thrasher, Marina Cavazzana y Manfred Schmidt entre otros, para la preparación de un proyecto europeo en el campo de la anemia de Fanconi.

En 2012, el proyecto *Phase I/II Gene therapy trial of Fanconi anemia patients with a new Orphan Drug consisting of a lentiviral vector carrying the FANCA gene: A Coordinated International Action* (EUROFANCOLEN), que me honró coordinar, fue finalmente aprobado por la Comisión Europea como uno de los pocos proyectos del programa INNOVATION 1 del FP7, para la realización de un ensayo clínico europeo para pacientes con anemia de Fanconi, que marcha a buen ritmo.

En la actualidad, nuestra División de Terapias Innovadoras del CIEMAT no solo cubre los aspectos de investigación traslacional en el campo de la anemia de Fanconi, sino también desarrollos innovadores para la terapia celular y génica de otras patologías como la anemia asociada a mutaciones en el gen de la piruvato quinasa eritrocitaria, la deficiencia de adhesión leucocitaria del tipo I, la enfermedad del injerto contra el huésped y otras enferme-

dades inflamatorias como la artritis reumatoide. Para no extenderme excesivamente en el desarrollo de este capítulo, y dado que otros investigadores de nuestra división desarrollan las principales tareas de liderazgo en la investigación de estas patologías, no me explayaré en la descripción de los resultados obtenidos en las mismas.

Para el desarrollo de nuestras actividades, además de las instituciones y agencias ya mencionadas, no puedo dejar de destacar el apoyo que siempre me ha sido confiado por parte del Plan Nacional de Investigación. Asimismo, en virtud del trabajo realizado por nuestra división en los campos de la terapia génica y celular en colaboración con diferentes investigadores de nuestro entorno, en el 2012 tuve el privilegio de coordinar un interesante proyecto de la Comunidad de Madrid titulado *Una nueva generación de medicamentos celulares más eficaces y seguros (CellCAM)*, que supone la continuación y expansión de un proyecto, anteriormente coordinado por mi buen amigo, el doctor Damián García-Olmo, centrado en la aplicación terapéutica de las células mesenquimales. En el proyecto *CellCAM* destaca la muy activa colaboración traslacional de sus diferentes grupos para el desarrollo de ensayos preclínicos y clínicos con células de mayor eficacia terapéutica.

Finalmente, gracias a una iniciativa de la doctora Carmen Ayuso, directora del Instituto de Investigación Sanitaria de la Fundación Jiménez Díaz (IIS-FJD), en enero de 2014 establecimos un convenio con esta institución para la creación de una Unidad Mixta de Terapia Celular entre el CIEMAT y el IIS-FJD. Esta nueva iniciativa supone un nuevo paso en nuestro compromiso para que la investigación desarrollada por nuestra división no solo pueda demostrar su relevancia a través de publicaciones en revistas de prestigio, sino que también encuentre una traslación social para el tratamiento de pacientes con enfermedades de mal pronóstico.

Conclusiones

Como conclusión de lo expuesto hasta aquí he de concluir reconociendo el papel de todos aquellos con los que he tenido y tengo el honor de trabajar. Deseo hacer mención expresa a todos mis colaboradores de la división, ya que la mayor parte del esfuerzo y también de la creatividad que con frecuencia se asocian a mi persona proceden de los investigadores sénior, predoctorales, posdoctorales y resto del personal que forma parte de la ivisión. Gracias a todos ellos, a su amplitud de miras, entusiasmo y generosidad me permiten coordinar un laboratorio excepcional tanto en el ámbito científico como en el humano. Ser su director supone a la vez un reto diario y un orgullo.

Bibliografía

1. T. Grande y J. A. Bueren, «Residual haematopoietic damage in adult and 8 day-old irradiated mice», en Int *J Radiat Biol*, vol. 63, 1993, pp. 59-67.

2. M. Lamana, B. Albella, F. Rodríguez , C. Regidor, C. Albo, A. Alegre, C. Arbona, B. Arrizabalaga, S. Bonanad, R. Bornstein, C. Burgaleta, C. Cañizo, M. Carmona, J. Corral, C. Delgado, L. Florensa, A. Galmes, B. González, A. Insunza, M. Majado, M. P. Martin, C. Panizo, J. Perez-Oteyza, M. J. Peñarrubia, A. Pineda, S. Querol, A. Siles, A. Suárez, M. Torrabadella, M, J. Uriz, J. García y J. A. Bueren, «Conclusions of a National Multicenter Intercomparative Study of In Vitro Cultures of Human Hematopoietic Progenitors», en *Bone Marrow Transpl*, vol. 23, 1999, pp. 373-380.

3. A. Pessina, B. Albella, M. Bayo, J. Bueren, P. Brantom, S. Casati, C. Croera, R. Pachment, D. Parent-Massin, G. Schoeters, Y. Sibiri, R. van den Heuvel y L. Gribaldo, «In Vitro Tests for Haematotoxicity: Prediction of Drug-induced Myelosuppression by the CFU-GM Assay», en *ATLA*, 2002.

4. B. Albella, J. C. Segovia, G. Güenechea y J. A. Bueren, «Preserved long-term repopulation and differentiation properties of hematopoietic grafts subjected to ex vivo expansion with stem cell factor and interleukin 11», en *Transplantation*, vol. 67, 1999, pp. 1348-1357.

5. J. C. Segovia, A. Real, J. A. Bueren y J. M. Almendral, «The in vitro Myelosuppressive Effects of the Parvovirus Minute virus of Mice (MVMi) on Hematopoietic Stem and Committed Progenitor Cells», en *Blood*, vol. 77, 1991, pp. 980-988.

6. F. Varas, A. Bernad y J. A. Bueren, «G-CSF mobilizes into peripheral blood the complete repertoire of hematopoietic precursors residing in the bone marrow of mice», en *Blood*, 88, 1996, pp. 2495-2501.

7. A. de Wynter, D. Buck, C. Hart, R. Heywood, L. H. Coutinho, A. Clayton, D. Burt, G. Güenechea, J. A. Bueren, D. Gagen, L. Fairbairn, J. A. Rafferty, B. I. Lord y N. G. Testa, «CD34+AC133+ Cells Isolated from Cord Blood are Highly Enriched in Long-Term Culture-Initiating Cells (LTC-IC), NOD/SCID-Repopulating Cells and Dendritic Cell Progenitor». en *Stem Cells*, vol. 16, 1998, pp. 387-396.

8. J. Barquinero, J. C. Segovia, M. Ramírez, A. Limón, G. Güenechea, T. Puig, J. Briones, J. García y J. A, Bueren, «Efficient Transduction of Human Hematopoietic Repopulating Cells Generating Stable Engraftment of Transgene-Expressing Cells in NOD/SCID Mice», en *Blood*, vol. 95, 2000, pp. 3085-3093.

9. P. Río, J. C. Segovia, H. Hanenberg, J. Martínez, K. Göttsche, N. Ching Cheng, H. J. van de Vrugt, F. Arwert, H. Joenje y J. A. Bueren, «In Vitro Phenotypic Correction of Hematopoietic Progenitors from Fanconi Anemia Group A Knockout Mice», en *Blood*, vol. 100, 2002, pp. 2032-2039.

10. R. Yáñez, M. L. Lamana, J. García-Castro, I. Colmenero, M. Ramírez y J. A. Bueren, «Adipose Tissue-Derived Mesenchymal Stem Cells (And-Mscs) have in vivo Immunosuppressive Properties Aplicable for the Control of the Graft-Versus-Host Disease (GVHD)», en *Stem Cells*, vol. 24, 2006, pp. 2582-2591.

11. A. González-Murillo, M. Lozano, L. Álvarez, A. Jacome, E. Almarza, S. Navarro, J. C. Segovia, H. Hanenberg, G. Güenechea, J. Bueren y P. Río, «Development of lentiviral vectors with optimized transcriptional activity for the gene therapy of Fanconi anemia patients», en *Hum Gene Ther*, vol. 21, 2010, pp. 623-630.

12. A. Raya, I. Rodríguez-Pizà, G. Güenechea, R. Vassena, S. Navarro, M. J. Barrero, A. Consiglio, P. Río, E. Sleep, G. Tiscornia, E. Garreta, T. Aasen, A. Veiga, I. M. Verma, J. Bueren y J. C. Izpisúa Belmonte, «Generation of disease-free hematopoietic progenitors from Fanconi anemia-specific induced pluripotent stem cells», en *Nature*, vol. 460, 2009, pp. 53-59.

13. P. Río, R. Baños, A. Lombardo, O. Quintana-Bustamante, L. Álvarez, Z. Garate, P. Genovese, E. Almarza, A. Valeri, B. Díez, S. Navarro, Y. Torres, J. P. Trujillo, R. Murillas, J. C. Segovia, E. Samper, J. Surralles, P. D. Gregory, M. C. Holmes, L. Naldini y J. A. Bueren, «Targeted gene therapy and cell reprogramming in Fanconi anemia», en *EMBO Mol Med*, vol. 23, n.º 6, 2014, pp. 835-848.

MARIANO ESTEBAN RODRÍGUEZ

UN CIENTÍFICO DE TIERRA DE CAMPOS

3

El pueblo

Comenzar a contar la historia de uno mismo resulta un tanto desafiante, pues la verdad es que no sabes por dónde empezar. Lógicamente, uno tiene que retroceder en el tiempo, y nada mejor que iniciar el cuento de tu vida por el momento en el que viniste a este mundo. Nací un buen día de verano, festividad de santa Ana, un 26 de julio de 1944, un tiempo difícil para los españoles y ciudadanos europeos por las secuelas de la cruenta Guerra Civil española y por las batallas que se libraban en muchos frentes durante la Segunda Guerra Mundial. Sin embargo, en mi lugar de nacimiento, un pueblo de la meseta castellana en Tierra de Campos, corazón de Castilla, el municipio de Villalón de Campos, entonces de unos 4.000 habitantes, en la provincia de Valladolid, el día se despertaba plácido y tranquilo y, al ser un pueblo eminentemente agrícola, la mayor parte de la gente se encontraba faenando en esos campos tan amarillos, inmensos, donde el sol golpea con fuerza y hay que protegerse. Nací en el número 23 de la calle Ángel María Llamas, en la casa familiar, un caserón típico castellano del siglo XVIII con dos plantas, numerosas habitaciones, patio, corral y bodega. Mis padres, Victorino Esteban, farmacéutico del pueblo, y mi madre, María Victoria Rodríguez, maestra de párvulos, me debían de contemplar con satisfacción, ya que llegaba al mundo el cuarto de los hijos, después de mi hermana mayor Ana, la siguiente María Luz y mi hermano José Luis, todos nacidos también en la casa familiar, con asistencia de la partera. Lo mismo ocurriría con el posterior nacimiento, tres años después, de mis dos hermanas mellizas, Rosa María y María Jesús. Era la época de los nombres compuestos acompañados con lo que se denominaba «dulce nombre de María». Así pues, crecí en una familia numerosa de seis hermanos y unos padres profesionalmente dedicados a la salud y la enseñanza. Obviamente, la formación de mis padres y el buen entorno familiar influyó muchísimo en el posterior desarrollo de mi vocación científica.

Mi padre era natural de Tórtoles de Esgueva, un pueblecito de la provincia de Burgos que se encuentra lindando con la provincia de Palencia, cerca de Castrillo de Don Juan. Era hijo de don Mariano y doña Emilia, mis abuelos paternos, que se dedicaban a la agricultura y disfrutaban de una buena situación económica. Nunca llegué a conocerlos, pero por lo que me ha contado Jesu, mi abuelo gustaba de relacionarse con los políticos de Burgos para obtener beneficios para el pueblo, mientras que mi abuela Emilia, de pelo rubio con una gran coleta trenzada, administraba la casa y el trabajo de los jornaleros, que en la época de verano llegaban de distintas provincias de España para la campaña, que duraba tres meses. Jesu es hermana de Esperanza, la mujer del hermano de mi padre, Clementino, que siguió los pasos de mi abuelo y se dedicó a la labranza. La tía Jesu, como la llamamos, es una mujer extraordinaria que cumplió los cien años este mes de agosto de 2014 y que se encuentra en perfectas condiciones físicas, tiene una memoria prodigiosa, rememora

tiempos pasados y presentes, camina sin bastón, hace la comida a mis primos Juan José y Flori y unas magdalenas excelentes, como las que me hizo hace un mes en la casa de Tórtoles y tuve ocasión de disfrutar contando historias sobre mis abuelos y bisabuelos paternos, todos ellos de la zona de Tórtoles y Torresandino, pueblo cercano. Además, no ha tomado nunca medicamentos y ahora solo omeprazol para el estómago. Indudablemente, tiene un magnífico genoma para explorar científicamente genes de longevidad y senescencia.

Mi primo Juan José es actualmente el alcalde del pueblo, cargo que lleva ejerciendo durante muchos años y con una gran personalidad. Fue pionero en el aprovechamiento de las aguas que se vertían al río Esgueva e impulsó la construcción de un pantano que actualmente da vida a la economía agrícola de Tórtoles. Compartí con él mis años de juventud, ya que pasaba los veranos en Tórtoles como recompensa por las buenas notas en mis estudios de bachillerato en Palencia, de lo que hablaré más adelante. Aprendí con diez años a convivir con los jornaleros y a compartir sus trabajos. Íbamos al campo a segar muy temprano, ayudaba a recoger y hacer gavillas con la mies, pero lo que más disfrutaba era la hora de la comida, con todos, recogidos al amparo de la sombra de un árbol o la que el carro con mulas nos proporcionaba. Me llamaban «Manolas» porque me hice famoso cantando la canción: «Donde habitan las manolas, España no hay más que una...». Creo que la convivencia con gente variada, sencilla, fue una lección que asimilé de muy joven y que me ha ayudado a afrontar posteriormente dificultades que la vida misma me ha deparado. Allí aprendí a montar a caballo para llevar la comida a lomos de la yegua a los jornaleros.

Por parte materna, conocí a mi abuela Casilda, mujer con amplios conocimientos, pero no a mi abuelo Cándido, que era marino mercante. Ambos eran burgaleses, y se trasladaron por negocios a los Barrios de Salas, pueblo declarado conjunto histórico cerca de Ponferrada, en la provincia de León, donde el abuelo tenía una industria de producción y venta de alcoholes. En los Barrios nació mi madre, pero pronto, al fallecer el abuelo por una infección en el apéndice (entonces llamado cólico miserere), mi abuela se traslada a Burgos y luego a Valladolid, donde dio educación a sus cinco hijos (Cándido, Casilda, Victoria, Luis y Maruja), dos médicos, dos maestras y la más guapa, Maruja, que con su belleza y cabello pelirrojo tenía suficiente para casarse bien, como comentaba mi madre, que era uña y carne con su hermana. La abuela Casilda pasaba los veranos en Villalón y era muy querida por todos nosotros, por su talante, su discreción con nuestras fechorías de niños y por la ayuda que nos prestaba en la lectura de buenos textos.

Mis primeras enseñanzas las recibí de mi madre, doña Victoria, como la llamaba todo el pueblo, puesto que ejerció de maestra hasta su jubilación siempre con los párvulos. Ya con tres años recuerdo acompañarla todos los días a la escuela pública, cuyo edificio de ladrillo rojo de arquitectura singular construido a principios del siglo xx aún se conserva, hoy convertido en museo del queso. El edificio estaba asignado a la clase de las chicas. Éramos unos sesenta niños en una misma aula, imagen que ha quedado plasmada en fotografías de la época, y que hoy sería impensable para un profesor de enseñanza infantil. Con mi madre aprendí las primeras letras, a leer y escribir, siempre con mucha paciencia y una caligrafía magnífica. En casa nos enseñó a leer correctamente utilizando el gran libro de Cervantes, *Don Quijote de la Mancha*. Era una maestra muy querida y todos sus alumnos la

recuerdan con gran cariño, era el momento de la primera enseñanza, la que no se olvida. De la escuela de párvulos pasé a la de los chicos, una construcción idéntica a la de las chicas, pero con maestros del género masculino. Cada año que transcurría me incorporaba a otra clase más avanzada, y así hasta que terminé los estudios de educación básica con diez años, cuando esta duraba hasta los catorce. A lo largo de estos años aprendí a interaccionar con otros chicos de tal forma que, influidos por las películas americanas de acción, del Oeste y bélicas, formamos una gran pandilla y nos considerábamos invencibles y en lucha contra otras pandillas de los barrios de San Juan y San Pedro. La experiencia callejera resultó muy provechosa, cuando uno la examina con el tiempo, ya que fueron los años en los que aprendí a convivir con chicos de mi edad, a competir en juegos, a ser fieles unos a otros y a compartir lo poco que teníamos. Ahí empecé a destacar en liderazgo. Todos los que formábamos la panda seguimos siendo buenos amigos. También aprendí a montar en bicicleta, en patines y a competir en carreras y saltos. Fueron años de total libertad y exploración continuada. Entre los siete y nueve años fui nombrado monaguillo de la iglesia parroquial de San Miguel, edificio magnífico románico-mudéjar de los siglos XIV-XVI. El sacristán era muy riguroso con la selección de monaguillos, así que tuve que pasar un examen de latín. Lo que más me gustaba era tocar las campanas de la torre, que con distinta entonación anunciaban la misa del día, el rosario de la tarde, una muerte o un incendio.

Subir a lo más alto del campanario y observar en lontananza los Picos de Europa a más de 80 kilómetros era una visión placentera, que te hacía sentirte grande.

Las enseñanzas en el área farmacéutica las aprendí de mi padre, don Victorino, como le llamaban en el pueblo. Un hombre querido por su personalidad abierta, afable, simpática y por estar siempre dispuesto a ayudar a los demás. La farmacia Victorino Esteban estaba ubicada en un lateral de la casa familiar, de tal forma que entrabas y salías directamente a la vivienda y viceversa. La rebotica de la farmacia se caracterizaba por ser el punto de encuentro de tertulias con el médico, el veterinario, el juez, el cura y demás autoridades municipales. La entrada tenía una estantería con gran número de botámenes de los siglos XVII a XIX, que aún se conservan. Desde niño me fascinaba la presencia abundante de frascos, botes, cajas y demás artilugios que contenían productos que conseguían que la gente estuviera bien y mejorara su salud. No entendía lo que era un medicamento, pero sabía que esas pastillas o inyecciones iban a curar a la persona que las tomaba. Me encantaba ayudar a hacer pastas y ungüentos que luego se introducían en tubos. Eran las fórmulas magistrales, que todavía hoy en día algunos médicos siguen recetando. Mi padre trabajaba las 24 horas del día durante los 365 días del año, pues era la única farmacia del pueblo y alrededores, por lo que estaba siempre de guardia. Mi hermana Ana continuaría posteriormente con la farmacia.

El colegio

A partir de los diez años recién cumplidos inicio una nueva etapa en Palencia, a donde mis padres me enviaron a estudiar de interno en el Colegio de los Maristas. Fue un cambio muy duro; salir de tu casa y entrar en un internado con un horario rígido y una fuerte disciplina requería una buena dosis de autocontrol. Estuve en los Maristas siete

años, del primer curso hasta el preuniversitario. Fueron años que con el tiempo recuerdas con cariño y en los que aprendí muchas cosas, como el método de estudio, la competitividad entre los compañeros y clases, la superación, el deporte, los retiros espirituales en conventos (hoy llamado *brain-storm*, aunque con otros objetivos) y, sobre todo, el compañerismo. Como el colegio promocionaba el deporte que aún hoy me sigue entusiasmando, me fui desarrollando como jugador de fútbol, un buen defensa lateral izquierdo con mucho recorrido por la banda, ya que corría los 100 metros lisos. De hecho, fui campeón juvenil en Palencia en los primeros Juegos de la Juventud, así como campeón de salto de longitud y de 4 x 100 relevos. Ser campeón de 100 metros lisos es algo que repetiría en competición en el estadio de Vallehermoso en Madrid, en los Juegos Universitarios de Farmacia. Una de mis mayores satisfacciones era ir los domingos a comer a casa de mis tíos Cándido, médico de piel, y Consuelo (la tía Chelo), farmacéutica, que aún hoy a sus noventa y un años se mantiene en perfectas condiciones físicas y mentales. Su presencia en Palencia y poder contar con su ayuda en cualquier momento fueron mi tabla de salvación para superar momentos difíciles, sobre todo cuando padecí la gripe asiática y otros momentos en los que creía padecer apendicitis. Además me enseñaron a ser responsable y a tener ambiciones futuras. Fue en quinto curso de bachillerato cuando se despertó en mí la curiosidad por la ciencia, gracias al esfuerzo de nuestro profesor, el hermano Francisco, por hacernos comprender las reacciones químicas con gran sencillez. Sin lugar a dudas, fue el catalizador que posteriormente en la universidad sirvió para que se fuese desarrollando en mí la curiosidad por entender los procesos biológicos. Como dato significativo, he de señalar que de los ciento veinte alumnos que iniciamos el primer curso de bachiller, terminamos el preuniversitario doce, es decir, solo un 10% llegamos a la universidad.

Universidad de Santiago de Compostela y Farmacia

De Palencia me trasladé a Oviedo para hacer el examen de Selectividad y, una vez aprobado, me alojé en el Colegio Mayor San Gregorio para iniciar los estudios de Selectivo, que era común para todas las carreras de ciencias, equivalente al primer curso en la universidad. En el colegio convivíamos estudiantes de distintas regiones, hoy comunidades, con una buena representación vasca, hijos de familias adineradas. Recuerdo que, al poco tiempo de mi aterrizaje y en una comida, unos estudiantes mayores me preguntaron que a cuántas asignaturas me iba a presentar ese año, a lo que respondí que a todas. La carcajada fue mayúscula, pues me consideraron un pardillo. La risa fue la mía cuando al final de curso aprobé todas las asignaturas y ellos seguían repitiendo. Mi primer contacto con la universidad fue una experiencia muy agradable, las clases se impartían en la Facultad de Ciencias Químicas y los profesores eran muy rigurosos, algunos de ellos excelentes en su transmisión de conocimiento. Oviedo, con su calle Uría, la sidrina y buenas amistades hicieron que pasara un año excelente. Ya para entonces había decidido estudiar la carrera de Farmacia. Encontraba en ella esa necesidad de exponerme a las materias que más me atraían entonces: los medicamentos y sus principios activos.

El siguiente destino fue Santiago de Compostela, con su famosa Facultad de Farmacia de Fonseca, y la canción: «Triste y sola se queda Fonseca, triste y llorosa...». De nuevo me alojé en un colegio, el Colegio Mayor San Clemente, en el campus de la Ciudad Universitaria, que

fue mi residencia durante toda la carrera de Farmacia, entonces cinco años adicionales al curso de Selectivo; o lo que es lo mismo, seis años para obtener la licenciatura, asumiendo que se aprobaran todos los cursos, como sucedió en mi caso. En esa época había cuatro facultades públicas de Farmacia (Madrid, Barcelona, Granada y Santiago) y la privada de Pamplona. Hoy se han multiplicado por el territorio español. Los años de colegio mayor fueron extraordinarios por los amigos que hice y con los que aún sigo manteniendo amistad y frecuencia de encuentros con cualquier tipo de excusa. El colegio se distinguía por su ambiente humanista, con conferencias de profesores invitados y coloquios sobre temas de máxima actualidad. Había un mural donde se reflejaban las contribuciones de los estudiantes más ávidos de transmitir sus pensamientos. Era todo muy aleccionador. En aquella época el colegio era famoso por las «novatadas» que se hacían a los recién llegados. Una noche, mientras dormíamos, llegaron a la habitación, que compartía con otros dos compañeros, un grupo de alumnos sénior con el uniforme de médicos cirujanos, bata blanca, gorro y mascarilla, y nos llevaron a los lavabos donde habían establecido la «sala de operaciones» para los novatos. Allí nos obligaron a desnudarnos, tumbarnos en una mesa y, armados con finas brochas y botes de pintura, empezaron a marcar, como si de una operación se tratara, todas las partes del cuerpo, de tal forma que terminamos pintados de muchos colores. El problema fue luego quitarnos la pintura, para lo que recurrimos a un bote de gasolina —algo muy peligroso por estar expuestos a ser antorchas vivientes—. Además, el colegio se distinguía por los deportes en competiciones con otros colegios, tanto en fútbol, donde jugaba de lateral izquierdo, como en balonmano, donde era portero. Las fiestas del colegio se celebraban anualmente por todo lo alto y eran famosas, con múltiples aperitivos, música y baile con chicas de otros colegios a las que invitábamos. En un momento dado, se apagaban las luces y se procedía a quemar en un gran recipiente la famosa «queimada gallega», compuesta por orujo, azúcar y granos de café, que mientras se quemaba se lanzaba al aire con un cazo y todo el mundo coreaba canciones gallegas, terminando por la canción que hoy en día es el himno gallego. Otra simpática actividad en estas fiestas eran las «carreras de burros». Era un recorrido de unos 100 metros sin montura. Con mi previa experiencia de montar a caballo de niño resulté ganador en varias de las competiciones.

Inicié el curso de Farmacia de 1962-63 en el Colegio de Fonseca, un magnífico edificio del siglo XVI. El número de alumnos por clase era de unos sesenta, sin contar los que luego se examinaban por libre. Las clases eran en plan magistral, con el profesor dictando el tema objeto de estudio, sin intervención de los alumnos, no porque estuviera prohibido, sino porque no estábamos acostumbrados a hacer preguntas en público. Sin embargo, el profesor Ernesto Viéitez, de Fisiología Vegetal, con recorrido en el extranjero, nos abrió los ojos a la realidad de la investigación internacional, ya que proyectaba diapositivas de sus experimentos y vivencias en Estados Unidos. A los alumnos más aventajados nos comunicaban cuáles eran las asignaturas de mayor dificultad en la carrera, como Botánica, Química Orgánica, Galénica y Técnica. Por ello, era común que los alumnos acudieran a otras universidades a aprobar dichas materias, lo que hacía de las facultades de Farmacia un lugar multiétnico, con alumnos de todas las comunidades de España, lo que a su vez sirvió para establecer vínculos de unión entre compañeros. De hecho, sigo manteniendo encuentros con antiguos alumnos de la Facultad de Farmacia repartidos por la geografía española.

Las asignaturas que más me gustaron en la carrera de Farmacia y que determinarían mi futuro como investigador fueron la Bioquímica y Microbiología. Bioquímica era impartida por un joven catedrático, don José Antonio Cabezas, que supo transmitir los conocimientos más actuales de la época sobre reacciones bioquímicas y ácidos nucleicos, pues hacía pocos años que Watson y Crick habían descifrado el ADN, como pieza instrumental de la replicación genética. El profesor Cabezas sigue en activo como Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, cuya presidencia ostento actualmente. Microbiología era impartida por el profesor Benito Regueiro, que había trabajado con el profesor Santiago Grisolía en Estados Unidos y tenía una mentalidad abierta hacia la investigación básica y aplicada. Como la microbiología me fascinaba, solicité a don Benito si me podía aceptar como estudiante en su laboratorio, y al ver mi entusiasmo lo aceptó. Entré como estudiante en prácticas en el laboratorio de microbiología en el curso 1965-66, lo que me permitió iniciarme en la investigación. El laboratorio de Microbiología estaba ubicado en la segunda planta del Palacio de Fonseca, con una portada y ventanal de magnífica arquitectura. Por aquel entonces se realizaban muchos análisis bacteriológicos de muestras de pacientes para el Hospital Clínico de Santiago, y la persona responsable era la profesora Ramona Bahamonde, conocida por todos como Ramonita. De ella aprendí muchísimo, sobre todo cómo iniciar la investigación de una muestra para identificar las bacterias presentes en fluidos biológicos, esputos, orina, heces, sangre o líquido cefalorraquídeo. Con gran rigor metodológico, Ramonita nos enseñó a identificar los patógenos presentes y las herramientas a utilizar, que siguen siendo actuales. Poder descifrar las bacterias en un fluido humano y determinar su sensibilidad o resistencia a un espectro de antibióticos produjo en mí la curiosidad por seguir avanzando y tratar de entender el porqué. Como en mis análisis bacteriológicos había observado una gran frecuencia de *Streptococcus faecalis,* que eran generalmente resistentes a un amplio espectro de antibióticos, pensé que la investigación sobre esta bacteria podría ser de interés para realizar la tesis doctoral. Cuando le propuse a don Benito hacer la tesis doctoral en su laboratorio y le pregunté qué tema consideraba él de interés, me indicó que la degradación de la piedra por agentes bacterianos podría ser tema de estudio. Ni corto ni perezoso me puse manos a la obra, preparando una batería de medios semisintéticos, otros sintéticos con combinaciones de distintos aminoácidos y sales. Durante unos meses fui recogiendo muestras por las piedras y columnas de Santiago que posteriormente analizaba en el laboratorio. Como transcurría el tiempo y las bacterias que aislaba o bien eran las corrientes o bien no crecían en los medios preparados, le consulté a don Benito si en lugar del proyecto de degradación de la piedra por microorganismos, con mayor probabilidad causado por agentes químicos, podría cambiar y continuar con el estudio del *Streptococcus faecalis*. Al obtener su conformidad me puse de lleno a trabajar en la tesis doctoral, cuyo título fue *Mecanismo de resistencia del estreptococo fecal a los antibióticos*. Afortunadamente, el laboratorio acababa de comprar una ultracentrífuga Beckman L-50 y, como no se tenía experiencia, me inscribí en un curso sobre ultracentrifugación en Múnich, al que acudí tras un largo viaje en tren. A partir de esa experiencia introduje en Santiago la técnica de fraccionamiento por gradientes de sacarosa, incluso construyendo el aparato. Eso me permitió iniciar estudios de fraccionamiento de los ribosomas y subunidades. Con la finalidad de determinar con más profundidad la interacción de diversos antibióticos con *Streptococcus faecalis*, me puse en contacto con el investigador de mayor renombre en España sobre acción de antibióticos, el doctor David Vázquez. Sin previo aviso, me presenté en su

laboratorio en el Centro de Investigaciones Biológicas del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). David me recibió al principio con sorpresa, puesto que reconocía el esfuerzo de un estudiante al realizar el viaje en tren desde Santiago a Madrid, pero al explicarle los objetivos de mi trabajo de tesis me ayudó con la bibliografía y a diseñar los experimentos. A raíz de este encuentro, en 1968 entré en contacto con el grupo de magníficos investigadores en el laboratorio de David, y posteriormente con el grupo de los doctores Eladio Viñuela y Margarita Salas, para finalmente ser profesor de investigación del CSIC. Fue mi puerta de entrada en esta institución. El trabajo de tesis me permitió adentrarme en la transferencia de información genética del ADN de bacterias resistentes a sensibles, clasificar bioquímica y genéticamente las cepas, aislar nuevas cepas con infección de fagos o definir interacción de antibióticos con ribosomas, entre otros. Durante el periodo de la tesis estudié también Ciencias Biológicas, licenciatura que inicié en Santiago en 1967 y que terminé en 1972. Defendí la tesis doctoral en junio de 1970 en el paraninfo de la Facultad de Farmacia con la máxima calificación, e inmediatamente comencé mi etapa posdoctoral.

Etapa posdoctoral en Londres

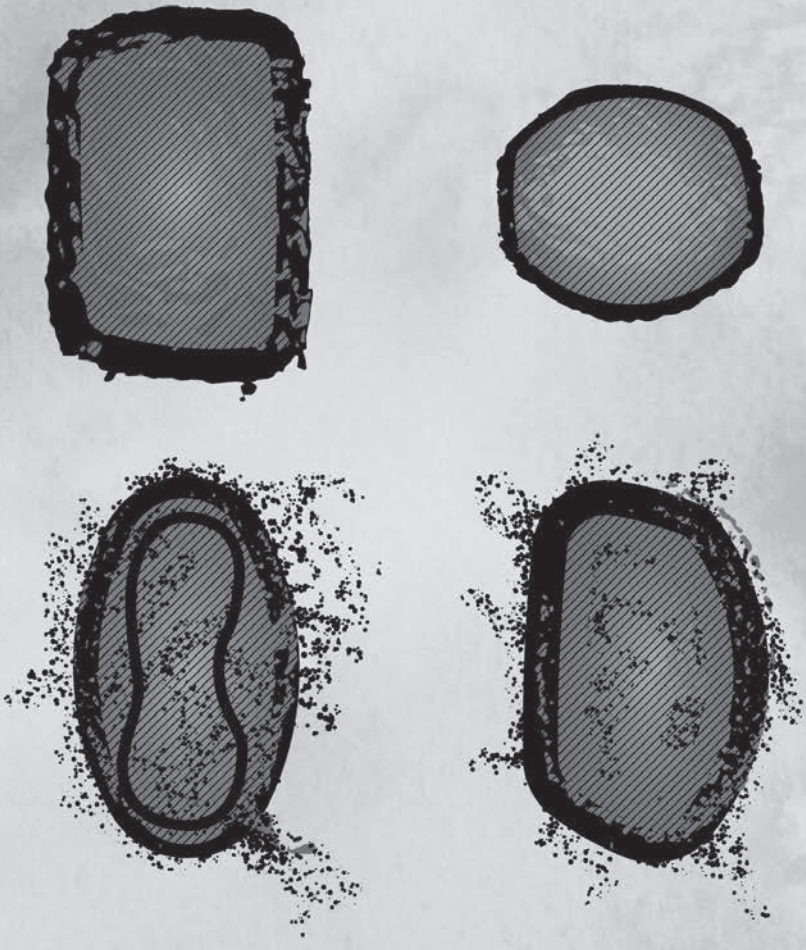
Mi etapa posdoctoral tiene su origen en contactos previos con grupos en Estados Unidos y Reino Unido. Aunque me aceptaron en tres laboratorios, Saint Louis, en Misuri, Bristol y Londres, me decidí por el laboratorio londinense. Con una beca del British Council me incorporé al departamento de Virología en el National Institute for Medical Research en Mill Hill, Londres. El jefe del departamento, el doctor Elio Pereira, me presentó a la persona con la que iba a trabajar, el doctor David Metz, en el mismo laboratorio donde Alick Isaacs y Jean Lindemann habían descubierto el interferón en 1957. De hecho, la mesa de escritorio que se me asigna es la misma que utilizó Alick, lo que me llena de orgullo. Era una época en la que había mucho escepticismo sobre la realidad del interferón, si era una proteína, ácido nucleico, o RNasa, y pocos laboratorios trabajaban sobre esta sustancia. Junto con David, inicié los estudios para determinar el modo de acción utilizando un extracto parcialmente purificado que contenía el principio activo, el interferón. El sistema que utilizamos se basaba en cultivos de células de ratón L929 en suspensión tratados con interferón y posteriormente infectados con el virus vaccinia. Demostramos cómo el interferón inhibía la síntesis de proteínas virales a nivel traduccional, impidiendo la iniciación, lo que publicamos en 1972 en *Nature*, seguido de varios artículos que avalaban dicha acción. Este trabajo pionero sirvió de base para posteriormente establecer sistemas in vitro (*cell-free systems*) que demostraban la inhibición viral (ARN del virus de la encefalomiocarditis) por la acción del interferón, y más tarde identificar las proteínas inducidas por interferón, como la proteína quinasa PKR y la enzima 2-5 A oligosintetasa, ambas responsables del control traduccional. Fueron años de máxima intensidad y emoción, colaborando estrechamente nuestro grupo con el del doctor Ian Kerr, en Bioquímica, que descubrió las dos enzimas. Por aquel entonces, el científico americano Robert Friedman se encontraba de sabático y colaboramos estrechamente dilucidando la acción del interferón en el ámbito de la síntesis de proteínas. En esa época, nuestro grupo en Virología, conjuntamente con los de Bioquímica, éramos los más potentes en el mundo sobre interferón, y nuestros trabajos influyeron para que otros investigadores se incorporaran al estudio de este tipo de agentes antivirales y antitumorales. Lo que es gratificante como investigador

es que actualmente el interferón se utiliza como medicamento clínico contra distintas patologías, encontrándose en las oficinas de farmacia de todo el mundo.

Los ánimos eran muchos y la investigación me apasionaba, por lo que extendí mi estancia, inicialmente de un año, a otros tres más con una beca EMBO. Tuve la fortuna de residir en un lugar privilegiado, los apartamentos del Medical Research Council, en Hampstead. De hecho, fui de la primera promoción de inquilinos en habitar dicho edificio recién construido. El ambiente de Hampstead era inspirador, con sus casas señoriales, calles, pubs, jardines y vida cosmopolita. Allí vivían artistas de cine, compositores, músicos, y circulaban con frecuencia coches Rolls-Royce, lo que indicaba el alto nivel social de la comunidad. También vivía en Hampstead el director del instituto en Mill Hill, el premio Nobel Sir Peter Medawar, un gran científico e intelectual. Recuerdo que tenía por costumbre acoger en su casa a los posdoctorales extranjeros recién incorporados al instituto, brindando con todos nosotros en Navidad con champán en un ambiente abierto de coloquio. En aquel tiempo, el instituto atraía a muchos posdoctorales americanos. Es una pena que el National Institute for Medical Research cierre sus puertas en 2015/16 al trasladarse los científicos y el personal de apoyo a las nuevas instalaciones del que será uno de los mejores centros de investigación mundial, el Francis Crick Institute de Londres. En Londres conocí en 1973 a la que sería posteriormente mi mujer, María Victoria, alias Chogüi, una chica dinámica, alegre y muy guapa. Se encontraba con un grupo de amigas que habían ido a pasar el verano para trabajar en distintos sectores. Como cantaban muy bien, las animé a cantar en un pub de Hampstead, y allí se inició nuestra relación, que se consolidaría en boda en diciembre de 1979.

Universidad de Rutgers

Mi etapa americana comienza con la invitación del profesor Walter Schlesinger, director del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina de Rutgers, en Piscataway, Nueva Jersey, un hombre altamente culto, de origen alemán, a quien conocí durante su estancia sabática en el Departamento de Virología en Londres. Éramos vecinos en Hampstead, puerta con puerta, y nos hicimos muy buenos amigos. Me convenció para que fuera a su Departamento de Microbiología en Estados Unidos, lo que hice en el verano de 1974. Durante unos días me alojé en su casa, y gracias a la ayuda de su encanto de mujer, Adeline, pude encontrar un buen apartamento cerca de la facultad. Como me interesaban las investigaciones sobre la replicación del ADN, me incorporé al grupo del profesor John Holowczak como instructor, lo que me permitía tener un mayor poder adquisitivo. Aunque éramos un grupo reducido, nos situamos en la primera línea de la investigación sobre la replicación del ADN del virus vaccinia. Demostramos los estadios de iniciación, elongación y terminación del ADN del virus, estableciendo un sistema in vitro de replicación. John se fue de año sabático a la Clínica Scripps en San Diego, así que me hice cargo del laboratorio, lo que me permitió incorporar a mi primer becario, Carlos Cabrera, licenciado en Biológicas por la Universidad de Santiago, que hizo la tesis conmigo y la presentó en Santiago. Carlos fue un brillante investigador en genética del desarrollo, con una trayectoria excelente que se vio truncada por su fallecimiento prematuro mientras trabajaba en el Instituto Marie Curie, cerca de Londres. Siempre los recordaré a él y a su mujer, María.



Gante

En 1978 me trasladé para una estancia corta con una beca EMBO al laboratorio de Biología Molecular y Celular que dirigía Walter Fiers en Gante, Bélgica. Eran los tiempos de la secuenciación del ADN de pequeños microorganismos, que me interesaba aprender, lo que hice secuenciando virus de plantas. Llegué al laboratorio en el momento en que celebraban el trabajo que acababan de publicar en la revista *Nature* sobre la secuenciación completa del genoma (5.000 nucleótidos) del virus SV40. Lo que entonces era un gran logro hoy parece una minucia, debido al progreso enorme en los equipos de secuenciación y procesos informáticos, ya que en 2014 se puede obtener la secuencia del genoma humano en unos días y a precios muy económicos. Estos avances están teniendo un gran impacto en el entendimiento de procesos patológicos, organización celular, tejidos y organismos. Vamos hacia la medicina personalizada. Estando en el laboratorio de Gante recibí una llamada del jefe del Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina (SUNY) de Brooklyn, en Nueva York, Alfred Stracher, ofreciéndome la plaza de profesor adjunto, cargo que acepté días después.

Nueva York

Me mudé a Nueva York en enero de 1979 y me incorporé al Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina, el Downstate Medical Center de la State University of New York (SUNY), donde inicié mi actividad investigadora en dos frentes, uno consistía en profundizar en el mecanismo de acción antiviral y anticelular del interferón y el otro en la utilización del virus vaccinia como candidato vacunal frente a infecciones por patógenos. Afortunadamente, por aquel entonces el Gobierno de Estados Unidos y los Institutos Nacionales de Salud (NIH) se habían interesado por la investigación sobre el interferón debido al potencial clínico de este compuesto como antiviral y antitumoral. Como anécdota comentaré que este interés del gobierno americano surge, en gran parte, como una acción de *lobby* ejercida por un pequeño sector de científicos y empresarios americanos. De hecho, tuvo un gran impacto la organización de una reunión con cóctel, a la que fui invitado, en la casa de la investigadora del Memorial Sloan Kettering Center en Nueva York, la doctora Mathilde Krim, casada con el presidente de United Artists y fundador de Orion Pictures, con presencia de senadores y congresistas. Mathilde era famosa por los encuentros que organizaba en su casa, ejerciendo de *lobbista*, donde celebraba reuniones con los presidentes Kennedy y Johnson. Como anécdota histórica, cabe destacar que fue en la casa de Mathilde donde se celebró el 45.º aniversario del presidente John Kennedy, con la presencia de Marilyn Monroe y su famosa dedicatoria de cumpleaños. Posteriormente, el interferón saldría en la portada (una pipeta con una gota en la punta) de la revista *Life Magazine*, gracias a un reportaje con el título «Interferon, the drug against cancer», en el que colaboré. Con la ayuda obtenida de proyectos financiados por los NIH y de fundaciones, en poco tiempo puse en marcha el laboratorio incorporando a estudiantes predoctorales y posdoctorales. El apoyo inestimable del profesor Ros Bablanian, una gran persona y gran amigo, fue capital para avanzar con rapidez, al ofrecerme las facilidades de su laboratorio y personal mientras los proyectos se consolidaban. Entre mis obligaciones docentes estaba el impartir clases de Bioquímica a los estudiantes de Medicina del primer año y a los estudiantes en la Escuela

de Graduados, además de tutoriales. Promocioné y participé en la dirección de la enseñanza de Biología Molecular como disciplina para los estudiantes graduados. En tres años me promocionaron a *Associate Professor* (nivel de funcionario) y en otros tres pasé a ser *Full Professor* (equivalente a catedrático). También fui nombrado profesor asociado al Departamento de Microbiología e Inmunología de la misma facultad.

Junto con un excelente grupo de becarios pre y posdoctorales establecimos una serie de logros científicos, como que en células tratadas con interferones del tipo I (alfa y beta) e infectadas con el virus vaccinia se producía una degradación masiva de los ARN mensajeros virales, que la acción del interferón se debía a que la proteína quinasa PKR inducía muerte celular por apoptosis, definiendo las regiones funcionales de la proteína, que la enzima 2-5 A oligosintetasa producía la degradación de los ARN virales, y que otra enzima inducida por los interferones del tipo II (gamma), la óxido nítrico sintasa, inhibía la replicación viral a nivel del ADN. Establecimos que en células tratadas con interferón y resistentes al virus vaccinia esto se debía a un proceso de interferencia entre el virus y el hospedador, como resultado de genes virales que contrarrestaban la acción del interferón. Posteriormente se identificarían genes del virus vaccinia, que bloquean la acción del interferón, así como del sistema inmune, estudios que llevaríamos a cabo más adelante a mi regreso a España. Demostramos cuáles eran los genes de vaccinia que codificaban para antígenos con capacidad de producir anticuerpos en personas inmunizadas frente a la viruela, y determinamos la función de alguna de estas proteínas en la entrada del virus en la célula.

Fue en 1981 cuando aparecen en Nueva York los primeros casos de infección por un agente desconocido, que posteriormente, en 1983, sería identificado por el grupo de François Barré-Sinoussi y Luc Montagnier, quienes recibirían el premio Nobel, como el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) causante del sida. Nuestro interés fue clonar los genes del VIH en el genoma de vaccinia, y así publicamos el primer artículo en *PNAS* sobre las construcciones de vectores virales atenuados pero replicativos como candidatos vacunales. Para entender cómo el virus se distribuye en la célula fuimos pioneros generando un virus con el gen de la luciferasa y demostrando su posterior localización en los tejidos de ratones infectados con el virus recombinante, trabajo también publicado en *PNAS*. Mediante colaboraciones con la Universidad de Nueva York (NYU) y Mount Sinai, fuimos también precursores en el establecimiento de protocolos de inmunización combinada de vectores para inducir respuestas celulares (linfocitos T CD8+) que se correlacionaban con protección frente a la malaria, de nuevo publicado en *PNAS*. Estos protocolos están siendo ampliamente utilizados en procesos de vacunación en ensayos clínicos. En colaboración con la Universidad de Yale, demostramos el uso de recombinantes del virus vaccinia para controlar la infección causada por leishmaniasis.

En Nueva York nacieron mis dos hijos, Julia y Jorge, en el Berth Israel Medical Center. Ya mi mujer, María Victoria, trabajaba como técnico responsable de cultivos celulares en mi laboratorio de la Facultad de Medicina (SUNY, Downstate Medical Center). Ver crecer a mis hijos fue una gran experiencia, con Julia siempre corriendo cuando salíamos de paseo y parándose en seco ante los semáforos, lo que asustaba a la gente que la veía correr, y Jorge mientras refunfuñando y diciendo a todo que no. Tuvieron la suerte de aprender inglés

con facilidad en el colegio, mientras que para mantener el español en casa les hablábamos en castellano. Disfrutaban los domingos cuando íbamos de paseo por Central Park, y su lugar preferido era la estatua de *Alicia en el País de las Maravillas* y el patito junto a la estatua de Andersen en el lago donde practicaban la navegación los miniveleros dirigidos por radiofrecuencia. También les encantaba visitar la casa de los juguetes FAO en la Quinta Avenida, donde pasaban sus mejores ratos jugando con todos los muñecos, algo que luego les sorprendería al regresar a España al ver que no les dejaban jugar con los juguetes cuando entraban en una tienda. En Nueva York hicimos amistades con otros científicos españoles, y eran famosas las fiestas de carnaval que organizábamos en nuestra casa del Upper East Side (333 East, 80 St).

Junto al científico Ángel Pellicer organizamos durante diez años el ciclo de conferencias «Ciencia e Investigación Científica» en la Casa de España y en el Instituto de España, con la participación de renombrados científicos y promesas que más adelante se consolidarían en las áreas de biomedicina, física y matemáticas, y a las que asistía un nutrido grupo de españoles y americanos, entre otros nuestro premio Nobel Severo Ochoa, que vivía cerca de mi casa, y que nos invitó a algunos científicos en varias ocasiones a cenar. De hecho, lo recuerdo cuando nos decía que antes de volver a España no quemáramos las naves, como Pizarro, porque había que asegurar el viaje de vuelta. Eso fue exactamente lo que hice cuando decidí regresar a España, manteniendo activo mi laboratorio de Brooklyn. También en Nueva York, en el año 1980, junto con destacados científicos españoles en todas las áreas del saber, fundamos la primera Asociación de Licenciados y Doctores Españoles en Estados Unidos (ALDEEU), de la que luego sería su presidente, con la finalidad de divulgar la cultura española en el continente americano y servir de puente de unión con nuestros colegas en España. Esta asociación sigue manteniendo encuentros anuales alternando cada vez una ciudad americana y una española.

Regreso a España

Estando en Nueva York recibí una llamada de José María Mato, entonces vicepresidente del CSIC, para ver si estaba interesado en la dirección del Centro Nacional de Biotecnología (CNB) de esta institución. Como había participado en los prolegómenos del CNB, conocía bien la situación desde sus orígenes, llevaba muchos años trabajando fuera de España y además había sido nombrado profesor de investigación del CSIC en 1987, consideré que era el momento de volver. Así pues, le confirmé mi interés, mantuve entrevistas con distintos investigadores y cargos del Gobierno y la universidad y en 1992 fui nombrado director del CNB. Después de veintidós años de investigación en distintos centros extranjeros, me trasladé con mi mujer y mis hijos a Madrid y asumí la dirección del centro el 1 de agosto de 1992, cargo que ostenté durante once años. Analizando retrospectivamente los logros obtenidos, estos fueron muchos, ya que con la ayuda de todos pusimos en marcha un centro que en poco tiempo fue reconocido por el Comité Científico Asesor Internacional, que nos evaluó varias veces como centro de excelencia en biotecnología (salud humana y animal, agricultura y medioambiente) en el mundo. Establecimos los departamentos y servicios, reclutamos un excelente plantel de investigadores, formamos a un gran número de personas que posteriormente fueron enriqueciendo otros centros de investigación y

fuimos polo de atracción para jóvenes investigadores nacionales e internacionales. Además, potenciamos la relación entre institución pública y empresa con la integración de investigadores del centro en la empresa creando el Departamento de Inmunología y Oncología, que posteriormente serviría de modelo para otras instituciones. Al dejar la dirección en 2003, el número de personas trabajando en el CNB ascendía a más de seiscientos. La situación actual del CNB se puede consultar en www.cnb.csic.es.

Vacunas

Junto a mis actividades administrativas tenía que crear mi propio grupo de investigación en España, lo que conseguí con la incorporación gradual de posdoctorandos que se trasladaron de mi grupo en Nueva York al CNB, a la vez que con el reclutamiento de estudiantes predoctorales. La línea fundamental de investigación de mi grupo es el estudio de la biología del virus vaccinia y su aplicación en la generación de vacunas frente a enfermedades prevalentes, inicialmente dirigido al VIH/sida, malaria y leishmania, y posteriormente frente al virus de la hepatitis C, chikungunya y cáncer de próstata. El interés del virus vaccinia en vacunación proviene de su uso en la erradicación de la viruela, única enfermedad humana eliminada de nuestro planeta. Para evitar problemas de seguridad con la vacuna actual, hemos utilizado estirpes atenuadas del virus vaccinia, el virus modificado de Ankara (MVA) que fue generado después de quinientos pases sucesivos en células embrionarias de pollo habiendo perdido unas 30 kb de material genético, y el virus NYVAC, generado por deleción dirigida de secuencias codificantes para dieciocho genes específicos, con la pérdida de unas 15 kb. Hemos demostrado que ambos vectores tienen distinto comportamiento inmunogénico, por lo que estudiamos los dos vectores como distintos candidatos en vacunas. Con los vectores MVA hemos generado candidatos vacunales frente al VIH, subtipos B y C (referidos como MVA-B y MVA-C), que representan más del 70% de todas las variantes del VIH repartidas por el mundo y hemos llevado a cabo por primera vez en España ensayos clínicos en fase I con MVA-B como vacuna profiláctica y terapéutica, evidenciando un buen comportamiento inmune frente a antígenos del VIH. El vector MVA-C se encuentra en ensayos clínicos en fase I en Reino Unido. Estos vectores han sido patentados, y la patente ha sido aprobada en Europa y Estados Unidos. Está en marcha la planificación de un ensayo clínico en fase II. También hemos generado vectores de MVA contra leishmania, malaria, hepatitis C (HCV) y virus del chikungunya (CHIKV). Este último virus se transmite a través de la picadura del mosquito *Aedes albopictus* y se está extendiendo por todos los continentes, causando fuertes dolores articulares e incluso la muerte. Hemos demostrado que estas vacunas inducen protección en modelo murino en los casos de leishmania, malaria y chikungunya. En el caso del VIH hemos probado que también la vacuna basada en MVA-SHIV (híbrido VIH/SIV) induce protección en modelo de macacos. En el caso de MVA-HCV no hay un modelo de ratón para ensayar protección, aunque hemos demostrado un buen comportamiento inmunogénico y estamos ampliando actualmente su rango de acción por deleción selectiva de genes virales. Debido al interés en controlar la infección causada por el virus del Ébola, con una tasa de mortalidad de entre el 50% y el 90%, según el aislado, hemos iniciado recientemente un proyecto de colaboración internacional sobre vacunas contra este virus, con la generación en nuestro laboratorio de vacunas MVA-Ébola para los virus variantes aislados en Sudán y Zaire.

Con los vectores NYVAC, y como parte de un proyecto financiado por la Fundación Bill y Melinda Gates, hemos generado vectores que expresan los antígenos del VIH Env y Gag-Pol-Nef que han sido ensayados en modelo preclínico (ratón y macaco), y en fase clínica I con personas sanas, mostrando seguridad y buen comportamiento inmunogénico. Está en marcha un ensayo clínico en fase II en Sudáfrica para iniciarse en 2016/17. Debido a que tanto el vector MVA como NYVAC contienen en su genoma genes que codifican para proteínas virales que actúan como inhibidores de la respuesta inmune, nuestro objetivo ha sido elucidar cuáles son los genes inmunomoduladores, determinar su función y eliminarlos del genoma de MVA y NYVAC para así potenciar su capacidad inmunogénica. Hemos identificado varios de estos genes que actúan en señalización a varios niveles, y demostrado que tras la eliminación de estos genes se incrementa la capacidad inmunogénica de estos vectores. Actualmente estamos llevando a cabo un análisis sistemático en la identificación de los genes virales relevantes con capacidad inmunomoduladora. En relación al cáncer de próstata, estamos desarrollando vectores oncolíticos y con capacidad para expresar antígenos tumorales para que puedan actuar destruyendo selectivamente las células tumorales, bien por infección directa y/o por activación de linfocitos T con capacidad citotóxica.

Nuestras contribuciones científicas sobre el modo de acción de los interferones han sido pioneras, potenciando el interés clínico de estos fármacos como agentes antivirales y antitumorales. Estudios en mi laboratorio han demostrado el papel que varios de los genes inducidos por los interferones desempeñan como reguladores de la muerte celular programada (apoptosis), lo que servirá para establecer pautas terapéuticas más eficaces en el uso de los interferones en pacientes con tumores y en terapia génica. En el campo de las vacunas hemos desarollado distintos prototipos vacunales frente a enfermedades con gran incidencia mundial y elevada tasa de mortalidad, algunas de las cuales se encuentran en ensayos clínicos y otras progresan en la misma dirección, lo que ayudará al control de distintas patologías.

Estas contribuciones científicas representan más de trescientos trabajos publicados en revistas internacionales, más de trescientas diez comunicaciones en congresos nacionales e internacionales, diez patentes y treinta tesis doctorales.

Mis investigaciones en Estados Unidos han sido financiadas por los Institutos Nacionales de Salud (NIH) y la Fundación Nacional de las Ciencias (NSF). Desde mi regreso a España, las investigaciones de grupo están siendo subvencionadas por la Unión Europea, los NIH, el Plan Nacional de Investigación y Desarrollo, el Fondo de Investigación Sanitaria, la Comunidad Autónoma de Madrid, la Fundación para la Investigación y la Prevención del Sida en España (FIPSE) y varias empresas. En 2005 obtuvimos un acuerdo de colaboración con la Fundación Botín de cinco años para realizar investigaciones en vacunas contra enfermedades prevalentes y en 2006 también mi grupo fue galardonado con un proyecto por la Fundación Bill y Melinda Gates para la generación de una vacuna contra el VIH/sida, que ha sido prorrogado en 2012.

En mi laboratorio se han formado estudiantes de varias nacionalidades y recibo periódicamente a profesores visitantes. Actualmente trabajan en mi laboratorio catorce personas,

pre y posdoctorales, de distintas nacionalidades. Participo en actividades académicas de máster con la Universidad Autónoma de Madrid (UAM), de la que soy profesor honorífico, y con la Universidad Complutense de Madrid (UCM).

Soy miembro de prestigiosas sociedades internacionales (American Society of Microbiology, American Society of Virology, British Society of Microbiology, Spanish Society of Microbiology, Harvey Society, The Society of Sigma Xi, New York Academy of Sciences, American Association for the Advancement of Science); miembro editorial y evaluador de artículos de revistas prestigiosas y de proyectos nacionales e internacionales; he participado en varios comités europeos (Member of the European Action Progamme Against AIDS, 1994-1997; Member of the COST/STD Initiative for a European Vaccine Program,1994-1997; Member of the European Concerted Action Against Malaria, 1996-1998; Member of External Advisory Group [EAG] of the European Commission, key action 2, Control of Infectious Diseases, Fifth Framework Programme, 1998-2002; Member of WHO Advisory Committee on Variola Virus Reseach, 1998-actualidad; Member of Strategic Advisory Group of Experts [SAGE] for Vaccines and Biologicals, WHO, 2003-2007; Member of Advisory Group for the Science Foundation of Ireland, 2001; y Member of European Science Foundation [ESF] Group for Research Infrastructures on Biomedical Sciences, 2003) y nacionales (ANEP; Grandes Instalaciones Científicas, 2003-2013; Member of the Scientific Advisory Board EU-CUTHIVAC, 2013-actualidad; y Comité Científico Asesor del CSIC, 2013-actualidad).

He recibido los premios del Consejo de Salud de Nueva York, el de la Universidad del Estado de Nueva York, el de Farmacéutico del Año y el de Iberdrola de Ciencia para Profesores Visitantes.

Soy fundador y presidente de la primera asociación de profesionales españoles en el extranjero, la Asociación de Licenciados y Doctores Españoles en Estados Unidos (ALDEEU), recibiendo en 2012 el medallón de ALDEEU; fundador y miembro de la Fundación Europea contra el Sida (EuroVacc); académico correspondiente de la Academia de Farmacia de Galicia; académico de honor de la Academia de Ciencias de Armenia; académico de honor de la Academia Española de Estudios Histológicos y Odontológicos; académico de número de la Real Academia Nacional de Farmacia (RANF) de España y presidente de la RANF.

He impartido un gran número de conferencias en varios países, organizado cursos, seminarios y congresos internacionales: fui presidente del XI International Poxvirus and Iridovirus Meeting, Toledo, 1996; fui presidente de la V European Conference on Experimental AIDS Research (ECEAR-2000), Madrid; copresidente del II European Virology Congress (EuroVirology-2004), Madrid; y copresidente del 7th Vaccine & ISV Congress in Sitges, España, 2013.

Después de este largo recorrido en el tiempo, lógicamente queda aún mucho por hacer, ya que la ciencia avanza de forma inexorable, como la vida misma, y estás en primera fila o te quedas fuera. Así pues, continuaremos con el desarrollo de nuevas vacunas, con la esperanza y convicción de que puedan llegar un día a las personas necesitadas.

Gracias a la ayuda de la Fundación Botín hemos podido trasladar el conocimiento básico a la clínica, a la vez que hemos logrado proteger los descubrimientos con patentes.

Mi agradecimiento hacia todos aquellos que a lo largo de los años han colaborado conmigo en el laboratorio, predoctorales, posdoctorales, personal técnico, agencias financieras, colegas y, muy especialmente, a mi mujer, María Victoria Jiménez, y a mis hijos, Julia y Jorge, por su constante apoyo para poder seguir haciendo lo que más me ha gustado y de lo que sigo disfrutando, que es tratar de entender cómo los virus producen enfermedades y sus procedimientos de control.

Relación de publicaciones más relevantes en los últimos diez años

J. García-Arriaza, V. Cepeda, D. Hallengärd, C. O. Sorzano, B. M. Kümmerer, P. Liljeström y M. Esteban, «A novel poxvirus-based vaccine (MVA-CHIKV) is highly immunogenic and protects mice against chikungunya infection», en *J Virol*, vol. 88, n.º 6, marzo de 2014, pp. 3527-3547.

C. E. Gómez, B. Perdiguero, M. V. Cepeda, L. Mingorance, J. García-Arriaza, A. Vandermeeren, C. O. Sorzano y M. Esteban, «High, broad, polyfunctional and durable T cell immune responses induced in mice by a novel hepatitis C virus (HCV) vaccine candidate based on MVA expressing the near full-length HCV genome (MVA-HCV)», en *J Virol*, vol. 13, 2013, pp. 7282-7300.

A. Vijayan, C. E. Gómez, D. A. Espinosa, A. G. Goodman, L. Sánchez-Sampedro, C. O. Sorzano, F. Zavala y M. Esteban, «Adjuvant-like effect of vaccinia virus 14K protein: a case study with malaria vaccine based on the circumsporozoite protein», en *J Immunol*, vol. 188, n.º 12, 15 de junio de 2012, pp. 6407-6417.

C. E. Gómez, B. Perdiguero, J. L. Nájera, C. O. Sorzano, V. Jiménez., R. González-Sanz y M. Esteban, «Removal of vaccinia virus genes that block interferon type I and II pathways improves adaptive and memory responses of the HIV/AIDS vaccine candidate NYVAC-C in mice», en *J Virol*, vol. 86, 2012, pp. 5026-5038.

C. E. Gómez, J. L. Nájera, B. Perdiguero, J. García-Arriaza, C. O. Sorzano, V. Jiménez, R. González-Sanz, J. L. Jiménez, M. A. Muñoz-Fernández, J. C. López Bernaldo de Quirós, A. C. Guardo, F. García, J. M. Gatell, M. Plana y M. Esteban, «The HIV/AIDS vaccine candidate MVA-B administered as a single immunogen in humans triggers robust, polyfunctional and selective effector memory T cell responses to HIV-1 antigens», en *J Virol*, vol. 85, 2011, pp. 11468-11478.

B. J. Flynn, K. Kastenmueller, U. Willie-Reece, G. D. Tamara, S. Munir Alam, R. W. B. Lindsay, A. Salazar, B. Perdiguero, C. E. Gómez, M. Esteban, C. G. Park, C. Trumpfheller, T. Keler, G. Pantaleo, R. M. Steinman y R. A. Seder, «Prime-boost immunization with protein targeted to the dendritic cell receptor DEC205 followed by recombinant NYVAC induces robust Gag CD4 and CD8+ T cell responses in non human primates», en *PNAS*, vol. 108, 2011, pp. 7131-7136.

J. Delaloye, T. Roger, Q. G. Steiner-Tardivel, D. Leroy, R. M. Knaup, S. Akira, V. Petrilli, J. Tschopp, G. Pantaleo, C. E. Gómez, B. Perdiguero, M. Esteban y T. Calandra, «Cross-activation of TLR2-TLR6, MDA5 and the NALP3 inflammasome for innate immune sensing of modified vaccinia virus Ankara (MVA)», en *PLoS Pathogens*, vol. 5, n.º 6, 2009.

A. Harari, P. A. Bart, W. Stöhr, G. Tapia, M. García, E. Medjitna-Rais, S. Burnet, O. Erlwein, T. Barber, C. Moog, P. Liljestrom, R. Wagner, H. Wolf, M. Esteban, J. Heeney, M. J. Frachette, J. Tartaglia, S. McCormack, A. Babiker, J. Weber y G. Pantaleo, «An HIV-1 clade C DNA prime, NYVAC boost vaccine regimen induces vigorous, broad, polyfunctional and long-lasting T cell responses», en *J Exp Med*, vol. 205, 2008, 63-77.

C. E. Gómez, J. L. Nájera, E. Pérez-Jiménez, V. Jiménez, R. Wagner, M. Graf, M. J. Franchette, P. Liljeström, G. Pantaleo y M. Esteban, «Head-to-head comparison on the immunogenicity of two HIV/AIDS vaccine candidates based on the poxvirus strains MVA and NYVAC coexpressing in a single locus the HIV-1BX08 and HIV-1 Gag-Pol-Nef proteins of clade B», *en Vaccine*, vol. 25, 2007, pp. 2863-2885.

M. A. García, J. Gil, I. Ventoso, S. Guerra, E. Domínguez, C. Rivas y M. Esteban, «The impact of protein kinase PKR in cell biology: from antiviral to antiproliferative action», en *Microb Mol Biol Rev*, vol. 70, 2006, pp. 1032-1060.

E. Pérez-Jiménez, G. Kochan, M. M. Gherardi y M. Esteban, «MVA-LACK as a safe and efficient vector for vaccination against leishmaniasis», en *Microbes Infect*, vol. 8, 2006, pp. 810-822.

I. Ventoso, M. A. Sanz, S. Molina, J. J. Berlanga, L. Carrasco y M. Esteban, «Translational resistance of late alphavirus mRNA to eIF-2 alpha phosphorylation: a strategy to overcome the antiviral effect of protein kinase PKR», en *Genes Dev*, vol. 20, 2006, pp. 87-100.

M. Cyrklaff, C. Risco, J. J. Fernández, M. V. Jiménez, M. Esteban, W. Baumeister y J. L. Carrascosa, «Cryo-Electron tomography of vaccinia virus», en *PNAS*, vol. 102, 2005, pp. 2772-2777.

J. Gil, M. A. García, P. Gómez-Puertas, S. Guerra, J. Rullás, J. Alcamí y M. Esteban, «TRAF family proteins link PKR with NF-kB activation», en *Mol Cell Biol*, vol. 24, 2004, pp. 4502-4512.

EUGENIO SANTOS

UN VIAJE CIENTÍFICO DE IDA Y VUELTA: SALAMANCA-NUTLEY-BETHESDA-SALAMANCA

4

Resumen

Eugenio Santos nació en Salamanca, donde tras acabar el bachillerato cursó la carrera de Ciencias Biológicas en su universidad. Obtuvo el grado de doctor en Microbiología/Bioquímica por la Universidad de Salamanca en 1978. Llevó a cabo periodos de formación posdoctoral en el Roche Institute of Molecular Biology (RIMB, Nutley, Nueva Jersey) entre 1979 y 1981 y en el Laboratory of Cellular and Molecular Biology del National Cancer Institute (LCMB, NCI, NIH, Bethesda, Maryland) de 1981 a 1984. Desde 1985 hasta 2000 fue investigador principal en laboratorios del campus de NIH e Bethesda, primero en el Laboratory of Molecular Microbiology (LMM, NIAID, NIH) entre 1985 y 1990 y luego en el Laboratory of Cellular and Molecular Biology (LCMB, NCI) desde 1991 a 2000. A finales de 1999 se reincorporó a la Universidad de Salamanca como catedrático del Departamento de Microbiología y Genética y director del Centro de Investigación del Cáncer-Instituto de Biología Molecular y Celular del Cáncer (CIC-IBMCC), centro mixto dependiente de la Universidad de Salamanca (USAL) y del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC).

La carrera científica del doctor Santos se ha desarrollado en estrecha sincronía temporal con el progreso de la Oncología Molecular. Trabajando como joven posdoctoral en el NCI a principios de los años ochenta, contribuyó a la clonación y caracterización del primer oncogén humano (H-*ras*, a partir de células de carcinoma de vejiga T24). Tras las contribuciones seminales que abrieron el campo de los oncogenes humanos, su investigación se ha centrado siempre en el análisis de la estructura, función y regulación de genes y proteínas de la familia Ras. Durante la década de los ochenta, continuó el trabajo pionero de aislar el oncogén H-*ras* y evidenciar su activación oncogénica por médio de mutaciones puntuales con la demostración, por primera vez en humanos, de la presencia de un oncogén K-*ras* activado en tejido tumoral, pero no en tejido normal, del mismo paciente. Durante la década de los noventa, el laboratorio del doctor Santos utilizó modelos de proliferación o diferenciación dependiente de Ras, como oocitos de *Xenopus* o preadipocitos 3T3L1, para producir avances adicionales en el entendimento de la estructura/función de las proteínas Ras y su participación en vías de transducción de señales que controlan la proliferación y diferenciación celular en eucariotas. Por último, a partir del comienzo del nuevo siglo, las investigaciones del doctor Santos han demostrado la especificidad funcional de los miembros canónicos de la familia Ras (H-Ras, N-Ras y K-Ras) y de sus activadores celulares específicos (GEF, factores de intercambio de nucleótidos de guanina) pertenecientes a las familias GRF y SOS, mediante un enfoque experimental que involucra la caracterización genómica y proteómica de cepas de ratones *knockout* para diversos genes Ras y GEF.

El doctor Santos es coordinador nacional de la Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer (RTICC) patrocinada por el Instituto de Salud Carlos III. Es también miembro de varios consejos editoriales y de asesoramiento científico, y ha sido mentor de más de cincuenta investigadores posdoctorales y estudiantes de posgrado durante su carrera científica. Ha recibido varios premios científicos, entre los que se cuentan el Premio Severo Ochoa de Investigación Biomédica (1996) o el Premio Echevarne de Oncología (2010), y también es miembro electo de la Real Academia de Medicina (RAMSA, Salamanca, España, 2003) y de la European Academy of Cancer Sciences (EACS, Bruselas, 2011).

Los años formativos en Salamanca y la vocación por la investigación biológica

Eugenio Santos desarrolló un interés muy temprano por la investigación biológica durante sus años jóvenes de formación en el bachillerato. En su vocación investigadora en el campo de las Ciencias Biológicas desempeñó un papel determinante la influencia de un profesor de Biología, don José Luis Lozano, al que tuvo durante varios cursos en el bachillerato. En una época en la que los profesores de Biología eran «profesores de Ciencias Naturales», don José Luis fue un adelantado, al poner especial énfasis en sus clases en todos aquellos aspectos que tenían que ver con la biología molecular (microbiología, bioquímica y genética). Sentía una admiración casi obsesiva por Severo Ochoa, al que hacia continua referencia, comentando reiteradamente todos aquellos desarrollos que tuvieran que ver con los ácidos nucleicos. Cuando Eugenio acabó el bachillerato tenía muy claro que quería dedicarse a la investigación en biología molecular siguiendo los pasos de su ídolo, Severo Ochoa. Para su satisfacción, muchos años después, el doctor Santos tuvo la fortuna de establecer una excelente relación personal con el doctor Ochoa, cuando coincidió con él en el Roche Institute of Molecular Biology en Nutley, Nueva Jersey.

La promoción de Ciencias Biológicas de la que formó parte Eugenio, la sexta, es conocida en la Facultad de Biología como la «Promoción de Oro» por el gran número de miembros que más tarde han llegado a ser profesores de diversas disciplinas biológicas en la USAL y otras universidades en España y en el extranjero. Durante el último año de licenciatura, Eugenio Santos decidió optar por continuar su formación científica solicitando la incorporación al Departamento de Microbiología, dirigido por el doctor Julio R. Villanueva. La admisión en aquel departamento, el más dinámico y abierto a las nuevas corrientes de la biología en aquella facultad, supuso una gran satisfacción, ya que le abrió definitivamente las puertas al mundo real de la investigación científica. Desde aquel mismo momento, la figura respetada y querida de «don Julio» ha resultado determinante a lo largo de los años como mentor y promotor de la carrera investigadora del doctor Santos y también de muchos otros colegas de promoción en aquel mismo departamento.

Una vez integrado en el Departamento de Microbiología, Eugenio obtuvo pronto una beca de investigación competitiva del CSIC que le permitió llevar a cabo, bajo la dirección del doctor Rafael Sentandreu, los necesarios proyectos de investigación para completar su tesina (1975) y su tesis doctoral (1978) con las máximas calificaciones en ambos casos (sobresaliente cum laude y Premio Extraordinario). Aquellos trabajos de investigación se centraron en

el entonces novedoso campo de las membranas biológicas y supusieron valiosas apartaciones al conocimiento de aspectos estructurales y funcionales de la membrana plasmática de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, dando lugar a un buen número de publicaciones en revistas del ámbito de la microbiología y la bioquímica, algunas de las cuales[1] todavía son frecuentemente citadas en la actualidad en la literatura científica.

Primera estancia posdoctoral. El Roche Institute of Molecular Biology

Finalizada la etapa doctoral en la Universidad de Salamanca, el doctor Santos se encontró en la situación que había anhelado durante años: poder seguir los pasos de su ídolo Ochoa y mudarse a Estados Unidos para obtener su formación posdoctoral realizando investigaciones científicas en un centro de primera línea de aquel país.

Para tal fin ganó una competitiva beca posdoctoral del Comité Conjunto Hispano-Norteamericano para la Cooperación Científica y Tecnológica (el actual programa de Fulbright Fellowships) que le permitió iniciar, en enero de 1979, su primer periodo de formación posdoctoral en el Roche Institute of Molecular Biology (RIMB, Nutley, Nueva Jersey) bajo la dirección del doctor H. R. Kaback. Personalmente, el traslado a Estados Unidos, y al RIMB en particular, supuso una experiencia enormemente satisfactoria y el primer contacto del joven doctor Santos con la «gran ciencia» fuera de España. Por un lado, el doctor Kaback era un líder científico ampliamente reconocido por su trabajo sobre el lac carrier y el transporte activo a traves de membranas de *Escherichia coli*, y la admisión en su laboratorio significaba una continuación y actualización del trabajo con membranas biológicas realizado en Salamanca. Por otro, el RIMB era un centro de investigación de primera clase que representaba un verdadero «Camelot» científico, por el gran número de investigadores de prestigio mundial que formaban parte de su *faculty*, entre los que se contaban nombres como los de Severo Ochoa, Bernie Horecker, Anne Skalka, Aaron Shatkin, Sydney Petska, y un largo etcétera. De hecho, fue una experiencia inolvidable para el joven Santos tener que presentar su primer seminario de instituto, con datos de su tesis doctoral salmantina, ante aquellas figuras, tan solo escasas semanas después de llegar a Nutley.

La investigación desarrollada bajo la dirección de Kaback en el RIMB se centró en la clonación y caracterizacion de genes codificantes de enzimas de membrana de *Escherichia coli* que estaban implicadas en la generación del gradiente electroquímico responsable de los procesos de transporte activo en este microorganismo. Aquellos trabajos dieron lugar a una serie de publicaciones en este campo[2, 3] que eran pioneras en el sentido de combinar el campo de la bioenergética tradicional con el de las entonces nacientes nuevas tecnologías de biología molecular e ingeniería genética.

La estancia en el RIMB permitió también a Eugenio Santos establecer una relación personal, científica y también de afecto mutuo con el doctor Severo Ochoa, cuyo laboratorio era contiguo al de Kaback. Es entendible la significacion personal de esta relación para el doctor Santos, ya que fue precisamente la figura de Ochoa la que años antes había tenido tan

gran influencia, durante su etapa escolar, en la decisión de realizar los estudios de ciencias biológicas con vistas a iniciar la carrera investigadora.

Por otra parte, la interacción con miembros de otros laboratorios del RIMB también amplió profundamente los conocimientos y la experiencia posdoctoral del doctor Santos, que así pudo conocer las nuevas tecnologías de clonación y secuenciación del grupo de Petska o la metodología de preparacion de anticuerpos monoclonales del laboratorio de Shatkin, facilitando de este modo la realización de su propio proyecto posdoctoral en el laboratorio de Kaback. De hecho, el dominio de técnicas de biología molecular e ingeniería genética fue seguramente un factor relevante para recibir la oferta de realizar un segundo posdoctoral en el National Cancer Institute, donde aquellas técnicas podían resultar útiles en el trabajo de caracterización de nuevos genes relacionados con procesos tumorales.

Segundo periodo posdoctoral. El National Cancer Institute. Aislamiento y caracterización de los primeros oncogenes humanos

Tras completar con éxito su primera etapa de formación posdoctoral, el doctor Santos tuvo ya la oportunidad de redirigir su línea de investigación y acercarse definitivamente al tema al que siempre había querido dedicarse: el estudio de la biología molecular del cáncer. Con ese objetivo aceptó en agosto de 1981 una oferta posdoctoral del National Cancer Institute (NCI) de Bethesda para trabajar junto con Mariano Barbacid en el Laboratory of Cellular and Molecular Biology (LCMB) del NCI, cuyo jefe de laboratorio era el doctor Stuart Aaronson.

El trabajo de laboratorio durante aquel periodo posdoctoral fue fascinante, y se desarrolló a un ritmo frenético bajo la presión de la competición que existía con otros grupos americanos que estaban trabajando en los mismos campos. Los primeros resultados obtenidos incluyeron inicialmente la clonación molecular, a partir de células T24 de carcinoma de vejiga, del primer oncogén humano identificado, el oncogén H-*ras*. Tras clonar también el alelo normal de aquel oncogén y establecer la relación de ambos con la familia *ras*,[4] el grupo procedió, en colaboración con Prem Reddy, a establecer que la activación maligna de estos oncogenes se debía a mutaciones puntuales en regiones específicas del gen.[5] En 1983, tras determinar también la localización cromosomal de H-*ras*, se obtuvo confirmación adicional del mecanismo de activación al clonar otro oncogén *ras* activado espontáneamente en el laboratorio.[6] Aquellos trabajos pioneros, junto con los de los laboratorios competidores de Weinberg (MIT, Boston) y Wigler (Cold Spring Harbor, Nueva York), constituyeron un auténtico cambio de paradigma en la investigación de los mecanismos íntimos del cáncer, ya que representaron la demostración de la existencia de oncogenes humanos y el aislamiento del primero de ellos, así como la confirmación del mecanismo de activación de los oncogenes *ras* por medio de mutaciones puntuales.

Después del esclarecimiento del mecanismo de activación de *ras* en líneas celulares, el trabajo del doctor Santos se centró en el análisis de oncogenes activados en tumores humanos extraídos quirúrgicamente, en particular en carcinomas de pulmón y colon. En 1984, tras

diseñar ensayos bioquímicos basados en polimorfismos de enzimas de restricción (RFLP) que permitían diferenciar los genes *ras* normales de los transformantes, el doctor Santos pudo identificar por primera vez en humanos la presencia de un oncogén K-*ras* en tejido tumoral pero no normal de un paciente aquejado con un carcinoma escamoso de pulmón.[7] Esta observación fue la primera de otras muchas hechas posteriormente en otros laboratorios, y estableció el carácter somático de las mutaciones de *ras* y confirmó la asociación específica de oncogenes *ras* con el desarrollo de tumores en humanos. En una entrevista publicada en el periódico *El País* en 2005, el doctor Santos manifestó que esta publicacion de *Science* en 1984 le satisfizo personalmente mucho más que las previas de los años ochenta y dos y ochenta y tres porque demostraba definitivamente la relación de los oncogenes con el desarrollo de tumores reales en pacientes, eliminando así las dudas que sentía internamente en años anteriores preguntándose si todos aquellos avances de laboratorio tendrían o no que ver con el cáncer «de verdad».

Estudios sobre estructura/función de Ras durante los años ochenta en el NIAID

Tras pasar un breve periodo intermedio en las instalaciones del NCI en Fort Detrick, en Frederick, Maryland, el doctor Santos estableció su propio grupo independiente de investigación en el Laboratory of Molecular Microbiology del National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) en Bethesda. A partir de esta etapa, el doctor Santos centró su trabajo en el análisis estructural y funcional de las proteínas producto de genes *ras*.[8] Con este propósito, su laboratorio desarrolló una serie de reactivos y aproximaciones experimentales nuevos que permitieron analizar aspectos estructurales y funcionales de las proteínas Ras y su participación en transducción de señales en procesos fisiológicos y patológicos.

De esta manera, usando técnicas de inactivación por radiación[9] o *crosslinking* intracelular, el doctor Santos demostró que las proteínas Ras están organizadas como homooligómeros in vivo. Esta estructura oligomérica tiene importantes implicaciones mecanísticas y estableció por primera vez diferencias claras entre las proteínas Ras y las subunidades alfa de proteínas G clásicas heterotriméricas. Curiosamente, la estructura oligomérica de Ras, ignorada durante largo tiempo, ha sido recientemente «redescubierta» en una serie de publicaciones utilizando modernas técnicas fisicoquímicas de imagen molecular de superalta resolución.[10] El doctor Santos desarrolló también en aquella época un panel de anticuerpos monoclonales contra las diversas regiones de las proteínas Ras que sirvieron como instrumentos muy adecuados para el análisis estructura-función, la purificación por immunoafinidad y la detección immunohistoquímica de proteínas Ras en muestras clínicas de diversos orígenes.[11]

El trabajo del grupo del doctor Santos contribuyó también de modo significativo a la clarificación del papel de las proteínas Ras en rutas de transmisión de señales dependientes de fosfoinosítidos. Así, tras demostrar que la transformación celular mediada por oncogenes ras produce alteraciones específicas en estas vías, observaron que exactamente las mismas alteraciones son producidas por transformación mediante oncogenes citoplásmicos (*mos*, *raf*) o de membrana (*src*, *met*, *trk*, etcétera), mientras que los oncogenes nucleares (*myc*, *fos*)

no producen tales alteraciones.[12] Estos resultados permitieron descartar una implicación funcional de las proteínas Ras como reguladores directos de fosfolipasa C (FLC) o fosfolipasa A2 (FLA2), los dos efectores mas importantes de dichas vías. También indicaban que la transformación por oncogenes citoplásmicos o de membrana implica rutas bioquímicas comunes y que las alteraciones metabólicas específicas de estas rutas eran potencialmente útiles como marcadores bioquímicos del proceso de transformación.[13]

El hecho de que el grupo del doctor Santos estuviera incardinado durante varios años en el NIAID del NIH, que estaba precisamente en aquella época centrado en la caracterización molecular del entonces bastante desconocido VIH responsable del sida, determinó también la realización que hizo su grupo de varios trabajos que, en contra de sugerencias experimentales de otros laboratorios, diferenciaron claramente las proteínas NEF del VIH de las proteínas de la familia Ras.[14]

Estudios funcionales de las proteínas Ras durante los años noventa en el NCI

En trabajos realizados durante la década de los noventa, el grupo del doctor Santos logró importantes contribuciones adicionales al entendimiento de la función y regulación de las proteínas Ras mediante el uso de modelos eucarióticos de proliferación (maduración meiótica de oocitos de *Xenopus*) y de diferenciación (adipogénesis en células 3T3 L1) dependientes de Ras.

Inicialmente, el grupo de Eugenio demostró que la microinyección de proteínas Ras podía inducir maduración meiótica (progresión de G2 a M en el ciclo celular) incluso en ausencia de síntesis de proteínas. Posteriormente observaron también que las proteínas Ras inducían en los oocitos cascadas de fosforilación que empezaban en MAPK y RSK y acababan en CDC2K, el regulador universal de entrada en la fase M del ciclo celular.[15] En estudios relacionados, el grupo del doctor Santos colaboró con el del doctor Vande Woude para demostrar que las proteínas Ras pueden actuar tanto en la fase M como en la fase G2 del ciclo celular. Aquellos estudios establecieron las bases para el análisis posterior de las interacciones funcionales de Ras con otras proteínas implicadas en el ciclo celular. De este modo, por ejemplo, en un artículo publicado en *Science* en 1991 en colaboracion con su antiguo compañero Dionisio Martín-Zanca, demostraron mediante microinyección en oocitos que el producto del protooncogén *trk* es un receptor funcional del factor de crecimiento nervioso NGF.[16] En otros trabajos realizados durante la misma época, el grupo del doctor Santos utilizó también los oocitos como modelo experimental para caracterizar el papel funcional de distintas moléculas reguladoras del ciclo celular, como la fosfatasa de especificidad dual VHR, el regulador de actividad CDK $p27^{kip1}$ o diversos dominios modulares aislados (SH2, SH3, PH, etcétera) presentes en proteínas señalizadoras implicadas en rutas dependientes de Ras.[17]

En otra serie de trabajos, el doctor Santos utilizó la línea preadipocítica 3T3 L1 para demostrar que las proteínas Ras son mediadoras esenciales de las señales celulares iniciadas por insulina y para caracterizar dichas vías de señalización en células de mamíferos. En estudios iniciales, el grupo del doctor Santos demostró que las proteínas Ras son necesarias y

suficientes en el proceso de diferenciación adipocítica de células 3T3 L1 inducido por insulina[18] y posteriormente emplearon este modelo biológico para caracterizar a nivel molecular las rutas de señalización mediadas por Ras.[19] Por una parte demostraron que la activación de Ras por insulina implica fosforilación en tirosina de moléculas asociadas a GAP, así como activación de moléculas intercambiadoras de nucleótidos. Por otra parte, caracterizaron la función esencial de las proteínas Ras en la activación de quinasas citosólicas por insulina en células 3T3 L1. Las proteínas Ras son mediadores esenciales en la activación de quinasas como Raf-1, MSK o RSK. Sin embargo, la activación de Raf-1 está disociada de la activación de MAPK/RSK y además, mientras que la activación de MAPK es requerida para el crecimiento celular, antagoniza fuertemente la diferenciación celular.[19] Estos resultados indican que las proteínas Ras activan las cascadas de quinasas citosólicas de modo diferente según se encuentren en un contexto celular de tipo proliferativo o de diferenciación.

Finalmente, durante la segunda mitad de la década de los noventa, y trabajando en un laboratorio del LCMB localizado en el edificio 37 del campus del NIH, el doctor Santos redirigió su investigación de modo preferente al análisis estructural y funcional de las diversas moléculas intercambiadoras de nucleótidos de guanina (*guanine nucleotide exchange factors*, GEF), y su papel como reguladores celulares responsables de los mecanismos de activación de las proteínas Ras en condiciones fisiológicas y patológicas como el cáncer. En distintas publicaciones en esta área, el grupo del doctor Santos documentó la existencia de múltiples isoformas de los distintos GEF que, además de ser funcionalmente diferentes, se expresan de manera diferencial en distintos tejidos o en distintos momentos del desarrollo.[20,21] Estas observaciones proporcionaban por primera vez un marco conceptual adecuado para comenzar a entender los mecanismos de regulación espacio-temporal de activación de proteínas Ras que son responsables de que las mismas proteínas Ras sean capaces de provocar respuestas diferentes dependiendo del contexto celular y funcional en el que se encuentren.

La vuelta a Salamanca. El Centro de Investigación del Cáncer (CIC)

A finales de 1999, el doctor Santos dejó su puesto como investigador principal en el NCI y se reincorporó a la Universidad de Salamanca como profesor del Departamento de Microbiología y Genética con el fin de ayudar a establecer y dirigir el recién construido Centro de Investigación del Cáncer-Instituto de Biologia Molecular y Celular del Cáncer (CIC-IBMCC), un centro de investigación traslacional del cáncer patrocinado conjuntamente por la Universidad de Salamanca (USAL) y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) desde su constitución formal en 1997.

La principal razón científica que le convenció para trasladar a su familia y su laboratorio desde Bethesda a Salamanca fue el desafío de intentar conjuntar investigación básica y clínica del cáncer en su propio país. Mientras que en el NCI en Bethesda realizaba exclusivamente investigación básica sobre el cáncer, el doctor Santos pensó que en Salamanca existía una oportunidad realista de poner en marcha un centro de investigación donde se combinara la investigación básica, clínica y traslacional del cáncer siguiendo el modelo

de los Comprehensive Cancer Centers norteamericanos. Una vez tomada, la decisión no tenía marcha atrás e implicaba que en el futuro debía añadir al trabajo de su laboratorio otra carga muy significativa de tareas de gestión necesarias para contribuir a la puesta en marcha y consolidación del nuevo centro en Salamanca.

Ya en el CIC de Salamanca, el laboratorio del doctor Santos ha continuado haciendo contribuciones significativas al demostrar la especificidad funcional de los distintos miembros de las familias Ras y GEF de proteínas celulares en distintas rutas de señalización y procesos fisiológicos o tumorales. La aproximación experimental utilizada para estos proyectos ha implicado el análisis fenotípico, genómico y proteómico de diversas razas de ratones *knockout* generados en su laboratorio que son portadoras de mutaciones inactivantes, individualmente o en combinación, de genes codificantes de proteínas Ras y sus activadores GEF de las familias SOS y GRF (en concreto, *H-Ras*, *N-Ras*, *K-Ras*, *Sos1*, *Sos2*, *RasGrf1* y *RasGrf2*). La extensa colección de estirpes murinas así generadas durante los últimos años ha permitido a este grupo mantener una adecuada posición competitiva para llevar a cabo con éxito este tipo de estudios desde España.

A pesar de la similitud estructural y de patrón de expresión celular existente entre los miembros de las familias SOS y GRF de proteínas GEF, la caracterización inicial de ratones *knockout* carentes constitutivamente de cada una de dichas proteínas apoyó desde el primer momento la noción de especificidad funcional de cada uno de estos GEF (Sos1, Sos2, Grf1 y Grf2) en los mecanismos de activación de proteínas Ras en diferentes tejidos y/o linajes celulares.[22-25]

Por otra parte, el análisis de ratones que carecen simultáneamente de las proteínas H-Ras y N-Ras, publicado en 2001 en un artículo que iba acompañado de una divertida viñeta dibujada en la portada de la revista por su editor, indicó que, mientras que H-Ras y N-Ras son dispensables tanto individualmente como en combinación, solo K-Ras es necesario y suficiente para el desarrollo de los animales hasta su etapa adulta.[26]

En relación a la especificidad funcional de los distintos miembros de la familia Ras, los trabajos del laboratorio del doctor Santos han demostrado que las diferentes isoformas de Ras desempeñan papeles funcionales claramente diferenciados en diversos contextos biológicos.[27] En concreto, las investigaciones de su grupo han servido para demostrar que las proteínas N-Ras están claramente implicadas en mecanismos celulares de defensa e inmunomodulación y en respuestas apoptóticas, mientras que H-Ras muestra una asociación preferencial con respuestas proliferativas.[28,29] Por su parte, las proteínas K-Ras tienen una función fundamental en la progresión del ciclo celular a través de la fase G1/S.[30] Otros estudios colaborativos del grupo han caracterizado también aspectos diferenciales de la implicación de las distintas isoformas de Ras en señalización intracelular así como la contribución específica de H-Ras a procesos fisiológicos renales y al control de la presión vascular sistémica.

En trabajos independientes, el grupo del doctor Santos también ha analizado la funcionalidad específica de los dos miembros de la familia Sos de activadores RasGEF en células de mamíferos. Análisis de ratones *knockout* constitutivos para estos loci mostraron previamente que Sos1 es esencial para el desarrollo embrionario,[22] mientras que Sos2 es perfecta-

mente prescindible en ratones adultos y su ausencia no produce ningún fenotipo obvio.[23] Sin embargo, trabajos recientes utilizando una cepa de ratón portadora de un alelo *knockout* condicional de Sos1, inducible por tamoxifeno, han mostrado que los ratones doble *knockout* (DKO) Sos1/2 mueren rápidamente, mientras que los ratones adultos *knockout* individuales para Sos1 y Sos2 son perfectamente viables, evidenciando así la redundancia funcional entre Sos1 y Sos2 para la homeostasis y supervivencia del organismo completo y para el desarrollo y maduración de linfocitos.[31]

Finalmente, el análisis de ratones *knockout* para RasGrf1 y RasGrf2 realizado por el grupo del doctor Santos ha revelado la diferente funcionalidad de estas dos proteínas GEF que son, por otra parte, muy similares en secuencia y estructura. Así, RasGrf1 desempeña un importante papel en procesos de fotorrecepción y envejecimiento, mientras que RasGrf2 coopera con otras proteínas celulares en señalización de linfocitos T y linfomagénesis.[32,33] Por último, en estudios recientes participando en consorcios internacionales para el análisis de SNP en poblaciones humanas mediante GWAS (*genome wide association study meta-analysis of directly genotyped or inputed human SNPs*), las razas de ratones *knockout* desarrolladas en el laboratorio del doctor Santos han servido también para documentar la implicación funcional de RasGrf1 en predisposición a defectos de visión como la miopía[34] y de RasGrf2 en predisposición a conductas adictivas como el alcoholismo.[35]

La importancia del *mentoring* y la gestión en la actividad científica

Las líneas anteriores documentan cómo, a lo largo de distintas etapas de su carrera profesional, el doctor Santos se benefició extensamente de la gestión científica y del apoyo directo recibido por parte de un buen número de maestros, colaboradores y mentores científicos que fue encontrando en las distintas instituciones en las que ha desarrollado su labor científica. Agradeciendo y reconociendo la importancia y necesidad de este tipo de apoyos, el doctor Santos ha puesto siempre un especial énfasis en realizar en su propio laboratorio todas las actividades de gestión científica y de tutoría (*mentoring*) que fueran necesarias para favorecer el progreso y la promoción de los jovenes investigadores miembros de sus equipos de trabajo a lo largo de los años. Constituye una satisfacción personal para el doctor Santos el hecho de que más de cincuenta investigadores, la mayoría de ellos posdoctorales, se hayan formado en su laboratorio, y que muchos de ellos ocupen actualmente posiciones independientes de relieve en diversas instituciones de España o en el extranjero.

Desde su vuelta a Salamanca en el año 2000, las labores de gestión y tutoría científica del doctor Santos se han acentuado de manera extraordinaria en comparación a los años previos en el NIH. Así, durante los últimos quince años, gran parte de sus esfuerzos han ido dirigidos a consolidar el CIC, con las casi doscientas cincuenta personas que lo integran, como un entorno competitivo de investigación del cáncer, haciendo especial hincapié en integrar investigación básica y clínica de calidad, según el modelo de los Comprehensive Cancer Centers (CCC) de Estados Unidos. Estos esfuerzos organizativos y de gestión han sido productivos y han contribuido a hacer del CIC un modelo pionero y en cierto modo único en comparación con otros centros de investigación competidores en España.

Además de su contribución local en el CIC de Salamanca, el doctor Santos también ha trabajado para transmitir la misma filosofía de investigación traslacional del cáncer, propia de los CCC, a la comunidad investigadora en el ámbito nacional. A este efecto, desde su creación en 2003, el doctor Santos ha contribuido en labores de liderazgo y gestión para fomentar y administrar los esfuerzos colectivos de investigacion llevados a cabo en el marco de la exitosa Red Temática de Investigación Cooperativa en Cáncer (RTICC), distribuida por todo el Estado español y patrocinada por el Instituto de Salud Carlos III.

Durante los últimos años, el doctor Santos ha sido miembro de numerosas paneles y comités de evaluación o asesoramiento científico para diversas instituciones nacionales (CNIO, IDIBAPS, CIPF, CICYT, Fundación Genoma, AECC, etcétera) e internacionales (ICGC, NSF, ISF, AIRC, etcétera), así como organizador de simposios internacionales y revisor o miembro de consejos editoriales en revistas especializadas. Ha recibido varios premios científicos, entre los que se encuentra el Premio Severo Ochoa de Investigación Biomédica (1986), el Premio Castilla y León para la Investigación Científica (1996), la Encomienda del Ministerio de Sanidad de España (2003), el Premio de Oncología Fundación Echevarne (2010) o el Premio Nacional FUNDALUCE (2012). Es miembro de la Real Academia Española de Medicina desde 2003 y de la European Academy of Cancer Sciences desde 2011.

En el contexto actual de crisis económica y de reducción de fondos públicos dedicados a la investigación en España y en otros países, es oportuno mencionar también el énfasis puesto por el doctor Santos en sus labores de apoyo a la investigación como miembro del patronato científico de diversas fundaciones dedicadas al desarrollo de la investigación española como, por ejemplo, la Fundación Científica de la AECC, la Fundación Ferrer o la Fundación Rodríguez Pascual. El doctor Santos también ha expresado en variadas ocasiones el honor y el privilegio que supone para él ver su nombre incluido junto al de los otros selectos investigadores que integran actualmente la *faculty* de la Fundación Botín. Sirvan estas líneas como expresión de su agradecimento al apoyo recibido desde la Fundación en años recientes, así como a todas las ayudas recibidas anteriormente por parte de todos aquellos mentores e instituciones que han hecho posible que su carrera científica haya podido desarrollarse hasta el momento actual.

Bibliografía

1. E. Santos, J. R. Villanueva y R. Sentandreu «The plasma membrane of *Saccharomyces cerevisiae*: isolation and some properties», en *Biochim Biophys Acta*, vol. 508, 1978, pp. 39-54.

2. E. Santos y H. R. Kaback, «Involvement of the proton electrochemical gradient in genetic transformation in *Escherichia coli*», en *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 99, 1981, pp. 1153-1160.

3. E. Santos, H. S. Kung, I. Young y H. R. Kaback, «In vitro synthesis of the membrane-bound D-lactate dehydrogenase of *Escherichia coli*», en *Biochemistry*, vol. 21, 1982, pp. 2085-2091.

4. E. Santos, S. R. Tronick, S. A. Aaronson, S. Pulciani y M. Barbacid, «T24 human bladder carcinoma oncogene is an activated form of the normal human homologue of BALB -and Harvey-MSV transforming genes», en *Nature*, vol. 298, 1982, pp. 343-347.

5. E. P. Reddy, R. K. Reynolds, E. Santos y M. Barbacid, «A point mutation is responsible for the acquisition of transforming properties by the T24 human bladder carcinoma oncogene», en *Nature*, vol. 300, 1982, pp. 149-152.

6. E. Santos, E. P. Reddy, S. Pulciani, R. J. Feldmann y M. Barbacid, «Spontaneous activation of a human proto-oncogene», en *PNAS*, vol. 80, 1983, pp 4679-4683.

7. E. Santos, D. Martin-Zanca, E. P. Reddy, G. Pierotti, G. della Porta y M. Barbacid, «Malignant activation of a K-*ras* oncogene in lung carcinoma but not in normal tissue of the same patient» en *Science*, vol. 223, 1984, pp. 661-664.

8. E. Santos y A. R. Nebreda, «Structural and functional properties of *ras* proteins», en *Faseb* J, vol. 3, 1989, pp. 2151-2163.

9. E. Santos, A. R. Nebreda, T. Bryan y E. Kempner, «Oligomeric structure of p21 *ras* proteins as determined by radiation inactivation», en *J Biol Chem*, vol. 263, 1988, pp. 9853-9858.

10. E. Santos, «Dimerization opens new avenues into Ras signaling research», en *Sci Signal*, vol. 7, n.º 324, 2014, p. 12. DOI: 10.1126/scisignal.2005318

11. V. Sorrentino, A. R. Nebreda, T. Alonso y E. Santos, «Preparation, characterization and properties of monoclonal antibodies against intact H-*ras* p21 proteins», en *Oncogene,* vol. 4, 1989, pp. 215-221.

12. T. Alonso, R. Morgan, J. C. Marvizon, H. Zarbl y E. Santos, «Malignant transformation by *ras* and other oncogenes produces common alterations in phosphoinositide signalling pathways, en *PNAS*, vol. 85, 1988, pp. 4271-4275.

13. T. Alonso y E. Santos, «Increased intracellular glycerophosphoinositol is a biochemical marker for transformation by *ras* and other membrane-associated and cytoplasmic oncogenes», en *Biochem Biophys Res Commun*, vol. 171, 1990, pp. 14-19.

14. A. R. Nebreda, T. Bryan, F. Segade, P. Wingfield, S. Venkatesan y E. Santos, «Biochemical and biological comparison of HIV-1 NEF and *ras* gene products», en *Virology*, vol. 183, 1991, pp. 151-159.

15. A. R. Nebreda, A. Porras y E. Santos, «p21ras-induced meiotic maturation of *Xenopus* oocytes in the absence of protein synthesis: MPF activation is preceded by actyivation of MAP and S6 kinases», en *Oncogene*, vol. 8, 1993, pp. 466-477.

16. A. R. Nebreda, D. Martín-Zanca, D. R. Kaplan, L. F. Parada y E. Santos, «Induction by NGF of meiotic maturation of *Xenopus* oocytes expressing the *trk* protooncogene product», en *Science*, vol. 252, 1991, pp. 558-560.

17. J. Font de Mora, A. Uren, M. Heidaran y E. Santos, «Biological activity of p27kip and its amino and carboxy terminal domains in G2/M transition of *Xenopus* oocytes», en *Oncogene*, vol. 15, 1997, pp. 2541-2553.

18. M. Benito, A. Porras, A. R. Nebreda y E. Santos, «Differentiation of 3T3 L1 fibroblasts to adipocytes induced by transfection of *ras* oncogenes», en *Science*, vol. 253, 1991, pp. 565-568.

19. J. Font de Mora, A. Porras, N. Ahn y E. Santos, «Mitogen-activated protein kinase Activation is not necessary for, but Antagonizes, 3T3 L1 Adipocytic Differentiation», en *Mol Cell Biol*, vol. 17, 1997, pp. 6068-6075.

20. C. Guerrero, J. M. Rojas, M. Chedid, L. M. Esteban, D. B. Zimonjic, N. Popescu y E. Santos, «Expression of alternative forms of Ras exchange factors GRF and SOS1 in different human tissues and cell lines», en *Oncogene*, vol. 12, 1996, pp. 1097-1107.

21. J. M. Rojas, M. Subleski, J. J. R. Coque, C. Guerrero, R. Sáez, B-Q. Li, E. Lopez, P. Aroca, T. Kamata y E. Santos, «Isoform-specific insertion near the Grb2-binding domain modulates the intrinsic guanine nucleotide exchange activity of hSos1», en *Oncogene*, vol. 18, 1999, pp. 2651-2663.

22. X. Qian, L. Esteban, W. C. Vass, C. Upadhyaya, A. G. Papageorge, K. Yienger, M. Ward, D. R. JLowy y E. Santos, «The Sos1 and Sos2 Ras-specific Exchange Factors: Differences in Placental Expression and Signaling Properties», en *EMBO* J, vol. 19, 2000, pp. 642-654.

23. L. M. Esteban, A. Fernández-Medarde, E. López, K. Yienger, C. Guerrero, J. M. Ward, L. Tessarollo y E. Santos, «Ras-guanine nucleotide exchange factor Sos2 is dispensable for mouse growth and development», en *Mol Cell Biol*, vol. 20, 2000, pp. 6410-6413.

24. A. Fernández-Medarde, L. M. Esteban, A. Núñez, A. Porteros, L. Tesarollo y E. Santos, «Targeted disruption of Ras-Grf2 shows its dispensability for mouse growth and development», en *Mol Cell Biol*, vol. 22, 2002, pp. 2498-2504

25. J. Font de Mora, L. M. Esteban, D. J. Burks, A. Núñez, C. Garcés, M. J. García-Barrado, M. C. Iglesias-Osma, J. Moratinos y E. Santos, «Ras-GRF1 Signaling is Required for Normal ß-cell Development and Glucose Homeostasis», en *EMBO* J, vol. 22, n.º 12, 2003, pp. 3039-3049.

26. L. M. Esteban, C. Vicario-Abejón, P. Fernández-Salguero, P. Fernández-Medarde, N. Swaminathan, K. Yienger, E. López, R. McKay, J. M. Ward, A. Pellicer y E. Santos, «Targeted genomic disruption of H-*ras* and N-*ras*, individually or in combination, reveals the dispensability of both loci for mouse growth and development», en *Mol Cell Biol*, vol. 21, 2001, pp. 1.444-1.452.

27. A. Fernández-Medarde y E. Santos, «Ras in cancer and developmental diseases», en *Genes Cancer*, vol. 2, n.º 3, 2011, pp. 344-358. DOI: 10.1177/1947601911411084.

28. E. Castellano, C. Guerrero, J. de las Rivas y E. Santos, «Transcriptional networks of knockout cell lines identify functional specificities of H-Ras and N-Ras: Significant involvement of N-Ras in biotic and defense responses», en *Oncogene*, vol. 26, 2007, pp. 917-933.

29. E. Castellano, C. Guerrero, A. Núñez, J. de las Rivas y E. Santos, «Serum-dependent transcriptional networks identify distinct functional roles for H-Ras and N-Ras during initial stages of the cell cycle», en *Genome Biol*, vol. 10, n.º 11, 2009, R123. DOI: 10.1186/gb-2009-10-11-r123.

30. S. Azrak, A. Ginel-Picardo, M. Drosten, M. Barbacid y E. Santos, «Reversible, interrelated mRNA and miRNA expression patterns in the transcriptome of Rasless fibroblasts: Functional and mechanistic implications», en *BMC Genomics*, vol. 14, n.º 731, 2013. DOI: 10.1186/1471-2164-14-731.

31. F. C. Baltanás, M. Pérez-Andrés, A. Ginel-Picardo, D. Díaz, D. Jimeno, P. Liceras-Boillos, R. L. Kortum, L. E. Samelson, A. Orfao y E. Santos, «Functional redundancy of Sos1 and Sos2 for lymphopoiesis and organismal homeostasis and survival», en *Mol Cell Biol*, vol. 33, n.º 22, 2013, pp. 4562-4578.

32. A. Fernández-Medarde, R. Barhoum, R. Riquelme, A. Porteros, A. Núñez, A. de Luis, J. de las Rivas, P. de la Villa, I. Varela-Nieto y E. Santos, «Rasgrf1 Disruption Causes Retinal Photoreception Defects And Associated Transcriptomic Alterations», en *J. Neurochem*, vol. 110, n.º 2, 2009, pp. 641-652.

33. A. Fernández-Medarde y E. Santos, «The RasGrf family of mammalian guanine nucleotide exchange factors», en *BBA-Reviews on cancer*, vol. 1.815, n.º 2, 2010, pp. 170-188. DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.11.001.

34. P. G. Hysi, T. L. Young, D. A. Mackey, T. Andrew, A. Fernández-Medarde, A. M. Solouki, A. W. Hewitt, S. Macgregor, J. R. Vingerling, Y. J. Li, M. K. Ikram, L. Y. Fai, P. C. Sham, L. Manyes, A. Porteros, M. C. Lopes, F. Carbonaro, S. J. Fahy, N. G. Martin, C. M. van Duijn, T. D. Spector, J. S. Rahi, E. Santos, C. C. Klaver y C. J. Hammond, «A genome-wide association study for myopia and refractive error identifies a susceptibility locus at 15q25», en *Nat Genet*, vol. 42, n.º 10, 2010, pp. 902-905.

35. D. Stacey, A. Bilbao, M. Maroteaux, T. Jia, A. C. Easton, S. Longueville, C. Nymberg, T. Banaschewski, G. J. Barker, C. Büchel, F. Carvalho, P. Conrod, S. Desrivières, M. Fauth-Buehler, A. Fernández-Medarde, H. Flor, J. Gallinat, H. Garavan, A. Bokde, A. Heinz, B. Ittermann, M. Lathrop, C Lawrence, E. Loth, A. Lourdusamy, K. Mann, J. L. Martinot, F. Nees, M. Palkovits, T. Paus, Z. Pausova, M. Rietschel, B. Ruggeri, E. Santos, M. N. Smolka, O. Staehlin, M. J. Jarvelin, P. Elliott, W. H Sommer, M. Mameli, C. P. Müller, R. Spanagel, J. A. Girault, G. Schumann y el consorcio Imagen (www.imagen-europe.com), «RASGRF2 regulates alcohol-induced reinforcement by influencing mesolimbic dopamine neuron activity and dopamine release», en *PNAS*, vol. 109, n.º 51, 2012, pp. 21128-21133.

CARLOS BELMONTE

MIRANDO HACIA ATRÁS SIN IRA

5

Decía Rilke que la verdadera patria del hombre es la infancia. Quizá por eso, parece necesario comenzar una autobiografía, aunque sea esencialmente profesional, evocando brevemente las vivencias y recuerdos de los primeros años. Algunas personas pueden presumir de haber construido una vida útil superando escaseces materiales, culturales o afectivas, asociadas a una infancia difícil. No ha sido ese mi caso. Si tuviera que sintetizar en pocas palabras los años tempranos de mi vida, lo haría diciendo que fueron plenamente felices y rodeados de calor familiar, apoyo y bienestar y que, desde ese momento en adelante, solo me cabe el mérito de haber sabido aprovechar las ventajas que me proporcionó ese favorable contexto. De ahí que haya escogido para encabezar este relato un título que hace alusión, dándole la vuelta, al de la obra teatral de John Osborne *Mirando hacia atrás con ira*, que recogía, en sentido contrario, el estado de ánimo de muchos jóvenes de mi generación.

Mi abuelo paterno, Nicolás Belmonte, era un oftalmólogo con incontestado prestigio profesional y social en nuestra ciudad de origen, Albacete. De sus cinco hijos, tres fueron también oftalmólogos, incluyendo al segundo, mi padre, José. Nicolás Belmonte era un hombre bondadoso, humano e ilustrado y un convencido republicano. Sus hijos pasaron sus años universitarios en Madrid en la Residencia de Estudiantes. Una experiencia que, además de permitirles convivir con los personajes más destacados de la cultura y la ciencia españolas del siglo XX, marcó para siempre su actitud vital: abierta al mundo, tolerante y con un acusado gusto por la cultura y la ciencia. Esto se tradujo en una constante preocupación por la educación de la siguiente generación, a la que yo pertenezco. Entre los miembros de esta se forjó, también, la complicidad afectiva surgida de los interminables veranos compartidos en la finca de los abuelos, donde cada familia tenía su casa y en la que convivíamos una nube de primos, niñas y niños de todas las edades, jugando, estudiando, nadando o leyendo, en un entorno de afecto y libertad. En el otro lado, mi abuelo materno, un catalán honesto y de derechas, poseía la principal y única librería de la ciudad, que incluía además una sección de instrumentos musicales y artículos religiosos, lo que provocó su quema en dos ocasiones en los años de la Guerra Civil. La inmensa y variada biblioteca en la reconstruida librería de la posguerra fue, para un voraz lector como era yo de niño, fuente privilegiada e inagotable, primero de tebeos y libros de aventuras y más tarde de obras de autores españoles y universales, algunos sospechosos ideológicamente y que, en aquel entonces, solo eran asequibles en las ediciones de lujo.

En 1951, cuando iba a iniciar el bachillerato, mis padres, José y Cecilia, y sus cinco hijos (José, Carlos, Isabel, Cecilia y Nicolás) nos trasladamos a Alicante. Tres oftalmólogos eran demasiados para una modesta y pequeña capital de provincia como Albacete, y los hermanos médicos sortearon a quién le tocaba ir a la ciudad de donde llegaban cada día más pacientes.

Habían repartido siempre por igual los ingresos obtenidos en la clínica familiar, y así siguieron haciéndolo tras separarse y durante más de treinta años. Asumieron conjuntamente los costes iniciales de nuestra familia en Alicante, las estancias profesionales de mi padre en Nueva York con Castroviejo o de su hermano Nicolás en Suiza, e incluso el año entero que este dedicó a preparar unas oposiciones a cátedra. Tal ejemplo de generosidad y mutuo apoyo ha servido de guía de conducta en la familia, transmitida como seña de identidad a hijos y nietos. Combinaba yo por entonces los inviernos de estudio en la luminosa y alegre ciudad marítima de Alicante con los veranos en mi querida Albacete, pronto recortados por un mes y medio de estancia en un colegio privado en Alemania, para aprender su lengua. Mi padre recordaba, de sus tiempos como alumno interno en la cátedra de Fisiología de Negrín, en Madrid, la importancia del alemán en la ciencia y se empeñó y logró que la aprendiéramos fluidamente desde niños, con clases particulares y estancias en Alemania, adonde viajábamos cada año mi hermano mayor, José, y yo, pronto yendo solos a pesar de tener doce y diez años, respectivamente. Llegamos incluso a perdernos en uno de los viajes, y fuimos repatriados desde Francia por el Consulado de España, una aventura muy admirada y comentada por nuestro entorno, ya que en aquellos tiempos apenas nadie, y menos los niños, viajaban al extranjero y aprendían otra lengua que no fuera el francés del bachillerato. Mis padres habían decidido también que la educación que ofrecía el Instituto de Enseñanza Media en Alicante era para nosotros mejor que la de los colegios religiosos, y allí estudié el bachillerato, en contraste con lo que hacían otros niños del mismo nivel social. Una sabia decisión que me permitió disfrutar de excelentes profesores, algunos de ellos supervivientes, en ese instituto de provincias, del cataclismo cultural y la persecución intelectual que siguió a la Guerra Civil. Fui un buen estudiante, muy inclinado hacia la literatura, las ciencias naturales y la química, sin duda influido por el entusiasmo que supieron transmitirme los profesores en estas materias, en particular el de Ciencias Naturales, don Abelardo Rigual. Yo escribía cuentos, cultivaba semillas, hacia potingues con plantas y tenía los pequeños animales que me dejaban en casa; era, en fin, un niño curioso y proclive a los pasatiempos intelectuales. Algo casi natural, en una casa en la que paraban, en sus visitas a Alicante, médicos como Pedro Laín o Gregorio Marañón, músicos como Achúcarro o pintores como Benjamín Palencia o Pancho Cossío, muchos de ellos antiguos residentes y amigos de mi padre.

Sin todavía haber cumplido los diecisiete años, me marché a estudiar Medicina a Madrid en 1960. Había dudado entre esta carrera y la de Químicas. Como consecuencia de una otosclerosis hereditaria, se me estaba reduciendo aceleradamente la audición, hasta el punto de obligarme a veces a recurrir a una prótesis mal disimulada en las gafas. Mi padre, que conocía mis preferencias por la investigación científica, profesión muy adecuada si mi sordera seguía progresando, me recomendó estudiar Medicina, un terreno que le parecía menos hostil para una trayectoria científica que en aquellos tiempos se adivinaba complicada.

La vida en el Colegio Mayor Jiménez de Cisneros, en plena Ciudad Universitaria, donde ya estaba mi hermano, ofrecía unas posibilidades de formación cultural y personal únicas en esa época. A él tendían a ir los hijos de los antiguos alumnos de la Residencia de Estudiantes, matriculados en las carreras más diversas y con inquietudes y formación muy dispares, lo que trasladó al Colegio Mayor Cisneros algunos de los valores y modos de operar

de la Residencia. La biblioteca, por ejemplo, disponía de todos los autores proscritos del momento (Sartre, Camus, Kierkegaard, etcétera), tenía una sala de música clásica, se proyectaban en cine club películas de Buñuel o Bergman, se discutía con razonable apertura lo divino y lo humano y se jugaba con pasión al rugby.

La Facultad de Medicina en la que comencé a estudiar, con más de ochocientos alumnos por curso en los primeros años, era una jungla regida por reglas darwinistas. Me dediqué a estudiar con ahínco y me atrajeron sobre todo la bioquímica y la histología, explicada esta por el último discípulo de Cajal, Fernando de Castro, un profesor poco elocuente en sus clases y severo en los exámenes pero al que enseguida reconocí como un científico que profundizaba de verdad en los conceptos. Asistía a las abarrotadas clases de pie, pegado a la mesa del profesor para poder oírlo. Al año siguiente fui a hablar con don Fernando para pedirle trabajar como alumno interno en su cátedra y, como había obtenido matrícula de honor, me admitió sin problemas. Solo le vi en el laboratorio un par de veces y, mientras aprendía de modo casi autodidacta las técnicas histológicas, concluí que estas requerían una gran paciencia y mucha habilidad manual, cualidades de las que yo andaba escaso; además, había empezado a estudiar fisiología con José María de Corral, encargado temporal de la cátedra, y me entusiasmó el carácter dinámico de esta disciplina, frente a la inmovilidad de la morfología y la bioquímica estructural. Al final del curso había decido hacerme fisiólogo. Mi padre, que me visitó en Madrid cuando iniciaba el tercer año de Medicina, fue conmigo a ver a Antonio Gallego, que acababa de conseguir la cátedra de Fisiología y de quien había sido compañero en la carrera y brevemente como alumnos internos en el laboratorio de Negrín, antes de la guerra, para preguntarle si me admitiría para trabajar en su cátedra. Lo recibió amablemente, pero también le advirtió con ruda franqueza que no quería tener recomendados. Me mandó, pues, al laboratorio de Francisco Clement, un oftalmólogo tan motivado por la ciencia que investigaba la bioquímica del vítreo costeándoselo él mismo; de allí pasé pronto al laboratorio de José María de Corral, formado con Houssay en Argentina y que estudiaba la fisiología de la secreción gástrica en perros. Ambos profesores, de personalidades bien distintas pero igualmente bondadosas y llenos de generosidad y afecto hacia mí, dedicaron su tiempo y paciencia a enseñarme los rudimentos de la investigación experimental. Además de ayudarles, tenía que preparar y dar clases prácticas, casi diarias, a los alumnos de Fisiología, realizando registros de presión arterial en gatos o perros, lo que me hacía perder mis clases y me obligaba a estudiar hasta muy tarde. Un sábado por la noche me había quedado solo en el laboratorio, al final de una clase práctica, intentando localizar el nervio frénico en un perro anestesiado. Antonio Gallego había ido con su mujer al cine y pasaba por delante del edificio de la Facultad de Medicina, totalmente apagado, excepto la ventana del laboratorio de su cátedra de Fisiología en la que yo me encontraba. Subió a ver quién andaba por allí; le expliqué, algo intimidado, lo que hacía, y me dijo al marcharse: «El lunes estate a las nueve de la mañana en mi laboratorio. Pasas a trabajar conmigo».

De ese modo, casi literario, empezó la relación con quien habría de ser para mí un maestro irrepetible en muchas cosas y a quien quise, admiré y tuve cerca hasta su muerte, en 1992. El laboratorio personal de Antonio Gallego se ubicaba en el Instituto de Farmacología Española (IFE), del que era director, y estaba montado y financiado por la Compañía Española

de Penicilina y Antibióticos (CEPA), en una planta de la Facultad de Medicina conectada con la de la cátedra de Fisiología. En ese centro se realizaba investigación farmacológica aplicada, pero también investigación básica. Todo allí era comparativamente moderno y funcional. Tenía técnicos, una biblioteca con muchas revistas extranjeras para esos tiempos y un comedor gratuito para que el personal pudiera hacer jornada continua. En el laboratorio de Gallego estábamos inicialmente solo Luis Cros, estudiante de segundo curso de Medicina, y yo mismo, alumno de cuarto. Un año después se incorporó Margarita Barón y, al poco tiempo, también Antonio de la Fuente como técnico electrónico, un autodidacta de inmensa valía intelectual y humana que, en gran medida, nos formó en electrofisiología a nosotros y a todos los estudiantes que se fueron incorporando gradualmente al grupo a lo largo de los años siguientes.

Gallego era, personalmente, un reconocido experto en la morfología funcional de la retina, a cuyo estudio dedicaba todas las horas que le permitía su frenética y variada actividad profesional de catedrático, de director científico de la CEPA y del IFE y de profesor prestigioso, involucrado en todas las polémicas universitarias del momento. Como fisiólogo, quiso que los jóvenes estudiantes en su laboratorio montáramos un *set up* de electrofisiología del nervio, similar al que él había utilizado en Estados Unidos con Lorente de Nó en la Rockefeller University. Al tiempo que registrábamos el nervio aislado, hacíamos otros experimentos de estímulo eléctrico crónico en nervios autonómicos de animales despiertos, registro electrocardiográfico, durante noches enteras, en voluntarios humanos para estudiar la arritmia sinusal y otros muchos ensayos derivados de las ideas que continuamente surgían de la fértil imaginación de «el Jefe». Una actividad algo caótica pero siempre cargada de entusiasmo e interés, que nos obligaba a leer, aguzar el ingenio y aprender los fundamentos y las técnicas requeridos para abordar tantos temas diversos. Por ejemplo, el que dio origen a mi tesis doctoral, dedicada a la regulación nerviosa de la presión intraocular, surgió de la observación por Gallego en preparaciones histológicas de retina, de fibras nerviosas que terminaban en ramificaciones bulbosas sobre los vasos sanguíneos y que rememoraban morfológicamente los presorreceptores arteriales. Su amigo Fernando de Castro, que venía con frecuencia de visita al laboratorio, exclamó al verlas: «¡Esto lo tenía que haber descubierto yo!». Como resultado del entusiasmo de mis dos profesores favoritos, dediqué los siguientes cuatro años de mi vida a disecar y registrar fibras sensoriales aisladas en los nervios ciliares del ojo del gato anestesiado, tratando de identificar barorreceptores que respondieran a cambios de la presión intraocular o de la presión sanguínea retiniana. Utilizaba para ello un osciloscopio Tektronix 565, cuyos amplificadores de señal conectaba directamente y sin filtros adicionales a los electrodos de registro, dentro de una cámara de Faraday. Para estos heroicos experimentos tuve que montar un laboratorio independiente, al que se incorporaron inicialmente, de modo gradual, los alumnos internos José Simón, Juan Jordá, Fernando Cerveró y Roberto Gallego, y en el que estudiamos, además de la actividad sensorial en los nervios ciliares, la de los barorreceptores arteriales in vivo e in vitro, formando entre todos un grupo científico junior dedicado a la neurofisiología sensorial.

El trabajo en el laboratorio absorbía mi vida. Baste decir que, siendo todavía alumno de Medicina, pasaba allí el día entero al menos seis días por semana, faltando a clase y estudiando las materias de la carrera a trompicones. Así, a partir del cuarto curso se acabaron

para mí las matrículas de honor que había conseguido hasta entonces en casi todas las asignaturas. Sin embargo, y pese a que ese ritmo de vida implicaba algunos sacrificios, disfruté profundamente de mi temprana dedicación a la docencia y la investigación al lado de Antonio Gallego. Este era un hombre de personalidad arrolladora, muy brillante intelectualmente, valiente en la defensa de sus ideas y capaz de convencer y entusiasmar a los más jóvenes por su inconformismo y agudo espíritu crítico. Su fuerte carácter a veces intimidaba a los pusilánimes, pero aceptaba de buen grado la discrepancia razonada, aunque viniera de unos jovenzuelos como sus alumnos internos, algo totalmente inusual en los catedráticos de la época. En los años junto a él, me prohijó científicamente y me promocionó en todos los aspectos. Siendo estudiante de sexto curso, me encargó dar una clase dedicada a la glándula pineal a los alumnos de segundo curso, sobre la que había escrito por mi cuenta una revisión. Siempre me llevaba a comer o cenar cada vez que le visitaba un científico extranjero y a congresos, reuniones y conferencias de fisiólogos o sobre la educación médica. Tan pronto como terminé la carrera fue dejando en mis manos, con total confianza, muchos de los temas internos relacionados con su laboratorio y su cátedra, me consiguió una plaza de profesor ayudante y, en cuanto fue legalmente posible, convocó para mí unas oposiciones —en aquel entonces locales— a profesor adjunto; Gallego se preocupaba también de conseguirme becas y ayudas personales, que complementaban un sueldo oficial con el que no me era fácil sobrevivir independiente de mi familia. Cuando su hijo Roberto decidió hacerse fisiólogo, lo puso a trabajar conmigo en el laboratorio. Con la perspectiva de los años puedo afirmar, con fundamento objetivo, que Antonio Gallego fue un maestro en el más noble sentido del término, con el que personalmente he tenido una deuda de gratitud impagable y al que sigo recordando con un profundo afecto filial.

El prestigio de Antonio Gallego como hombre de planteamientos universitarios avanzados e inconformistas empezó a atraer a su cátedra a estudiantes muy brillantes, muchos de ellos comprometidos ideológicamente con la izquierda, lo que le generó más de un conflicto con las autoridades académicas y políticas de aquellos tiempos revueltos, pero que creó también a su alrededor un ambiente único de discusión, compromiso y entusiasmo científico y docente. Esto se potenció en 1966 con la incorporación a la cátedra, como profesor adjunto, de Alberto Oriol Bosch, que había sido durante diez años investigador en Alemania y Estados Unidos. Su llegada imprimió un estilo diferente al funcionamiento científico y pedagógico de la cátedra que acabó marcando a todos los que nos integrábamos en ella. Nos introdujo en los enfoques y metodologías de trabajo del mundo desarrollado, que incluían el seguimiento y lectura obligada de la bibliografía internacional, el aprendizaje del inglés y los seminarios de discusión científica. Pese a la diferencia de edad entre Alberto y yo, establecimos una sólida amistad y una gran complicidad de ideales y objetivos. Su honestidad personal y científica, sintonía con los jóvenes, claridad de ideas e inmensa capacidad de trabajo le convirtieron, además, para muchos estudiantes que iniciaban la carrera científica, en un polo de atracción. En unos años reunió a su alrededor a un grupo amplio y sólido de investigación en endocrinología. Oriol y Gallego, dos hombres de personalidad radicalmente diferente, se apreciaban y respetaban profundamente, y su mutuo afecto, que permaneció inalterable toda la vida, proporcionó solidez y coherencia a la rápida expansión que experimentó la cátedra de Fisiología, convirtiéndola en unos pocos años en el núcleo principal de investigación fisiológica de nuestro país.

A principios de 1971, mi carrera académica se había casi completado administrativamente, ya que obtuve por oposición una plaza de profesor agregado de Fisiología de la Facultad de Medicina de Madrid, una de las primeras creadas en España. El natural paso siguiente era ocupar por concurso alguna de las cátedras de Fisiología que iban a quedar muy próximamente vacantes en diferentes universidades españolas. Sin embargo, mis planes personales eran bien distintos. Al ser agudamente consciente de las insuficiencias y limitaciones de mi formación científica, deseaba ampliarla mediante el trabajo con alguno de los investigadores que publicaban los artículos científicos que yo admiraba y con cuya dificultosa lectura había logrado aprender solo el inglés escrito. Ya al terminar la tesis en 1968, había comenzado a buscar el modo de dar ese paso. Gallego conocía personalmente a Stephen Kuffler, y le preguntó si me podía admitir en su laboratorio de Harvard. Pero le contestó que no tenía sitio en ese momento, sugiriéndole como alternativa a su discípulo Carlos Eyzaguirre, director del Departamento de Fisiología en la Universidad de Utah. Este era un buen amigo personal de Antonio Fernández de Molina, profesor de Investigación en el CSIC, que me conocía y apreciaba, por lo que se ofreció a contactar con él. Unos meses después, en 1970, Carlos Eyzaguirre vino de visita a Madrid y, tras una entrevista cordial y relajada, me aceptó en su laboratorio. Pedí una beca de la Fundación Juan March y me fue concedida. Y un par de meses más tarde me informaron del logro también de una International Fellowship de los National Institutes of Health (NIH) americanos, a la que preferí por ofrecer algunas ventajas adicionales. De ese modo, y en cuanto terminé la oposición nacional a profesor agregado, pedí la excedencia para marcharme a Estados Unidos.

En el plano personal, mi sordera, que me había librado de hacer el servicio militar y proporcionado así un par de años de ventaja sobre mis compañeros de carrera, fue radicalmente corregida hasta el día de hoy, por una providencial cirugía que acababa de desarrollarse. Había conocido en mis vacaciones estudiantiles en Alicante a una parisina, Anny, estudiante de español. Tras un par de veranos juntos y muchos viajes entre su ciudad y la mía, se vino a vivir a Madrid, y nos casamos en mayo de 1968. Nuestro primer hijo, Pablo, nació en julio de 1970, y en septiembre del año siguiente iniciamos los tres nuestra aventura americana.

La experiencia posdoctoral en Estados Unidos marcó para siempre mi carrera científica, como le ha ocurrido a la mayoría de los jóvenes investigadores españoles que se marcharon a prepararse a ese país desde la posguerra. El Departamento de Fisiología de la Universidad de Utah era, en aquel momento, quizá el mejor del país en neurofisiología sensorial, con Eyzaguirre, Hunt, Perl, Burgess o Woodbury como líderes científicos. Tuve, por fin, la oportunidad de trabajar rodeado de gente que sabía más que yo, con un laboratorio moderno, técnicos de apoyo, talleres mecánico y electrónico y una biblioteca de ensueño. Alojados en unos recién estrenados apartamentos para médicos residentes y posdoctorales, al lado del hospital universitario en el que se ubicaba el Departamento de Fisiología, nuestra vida personal era idílica y sin preocupaciones, mientras que la científica resultaba excitante, con colegas alrededor de todas las generaciones con quienes discutir de ciencia. Carlos Eyzaguirre era no solo un científico de primer nivel, apasionado por su trabajo, sino también un hombre dotado de cualidades humanas muy excepcionales. Con una educación y distinción exquisitas adquiridas en su Chile natal, él, su mujer Elena y sus hijos

pasaron a ser la familia que habíamos dejado detrás, particularmente cuando nació allí nuestro segundo hijo, Diego. Mi trabajo con Carlos Eyzaguirre se centró en el estudio del control eferente de los quimiorreceptores del cuerpo carotídeo, analizando los mecanismos de modulación de la actividad de este receptor periférico, con la que fue, posiblemente, la primera preparación funcional in vitro de una estructura nerviosa de mamífero que había desarrollado Eyzaguirre. Pese a mi todavía rudimentario inglés, Eyzaguirre me encargó dar algunas clases a los alumnos de Medicina, nombrándome profesor visitante, y me ofreció escribir tres capítulos en la nueva edición de su popular libro *Physiology of the Nervous System* que preparaba con su colaborador Sal Fidone como coeditor. Con este, sucesor de Eyzaguirre años después en la dirección del departamento, trabé también una sólida y duradera amistad, basada en afinidades personales, generacionales y de intereses científicos.

Durante mi estancia en Utah vino Keffer Hartline a pasar un sabático en el departamento. Keffer había recibido cinco años antes el Premio Nobel por su caracterización de los mecanismos de inhibición lateral en sistema nervioso en el ojo del *Limulus*, un invertebrado acuático. Eyzaguirre me propuso que trabajara con él, puesto que venía solo y buscaba a algún colaborador. Acepté encantado, ya que intuía, como se demostró enseguida, que me ofrecería la oportunidad de trabajar codo con codo con uno de los neurocientíficos más interesantes del momento. Estudiamos experimentalmente la génesis de potenciales de acción en *Limulus* y en el nervio óptico de un artrópodo, el escorpión. Además, y lo que seguramente fue más importante, pasé con él horas de conversación enriquecedora en las que, además de aprender muchas otras cosas, me percaté de la importancia del rigor experimental sin concesiones, de la necesidad de autocrítica en la investigación y fui testigo de la inmensa curiosidad de un hombre de setenta años que había entrado ya en la historia de la neurociencia moderna.

A pesar de la tentación siempre presente de permanecer en Estados Unidos y continuar allí una carrera investigadora, seguramente más productiva que en España, desde el primer momento de mi estancia en este país di por descontado que tenía la obligación de regresar y contribuir con mi esfuerzo personal a reducir el secular atraso científico de mi patria, conjugando un romanticismo «cajaliano» con el deseo de ayudar a que el espíritu de la Ilustración inspirara su progreso. Más de cuarenta años después, sigo creyendo que la ciencia y la educación son los mejores pilares sobre los que asentar la sociedad humana y, en consecuencia, doy todavía por bueno el precio personal, si lo hubo, pagado por aquella decisión. A pesar de eso, mi vinculación con Estados Unidos se mantuvo y reforzó desde esa primera e inolvidable experiencia, a través de repetidas estancias en la Universidad de Utah, donde aún mantengo un puesto oficial de profesor adjunto, y en la de Harvard, donde he sido profesor visitante en dos estancias sabáticas, la segunda al concedérseme el Premio Nacional Cátedra Severo Ochoa por el Gobierno español. Sigo teniendo en Estados Unidos un gran número de amigos científicos y personales y allí residen mi hijo Diego y mis nietos. Conservo pues un profundo afecto hacia ese país, generoso y convencido del valor de la ciencia, en el que me siento como en mi propia casa.

A principios de los años setenta empezaron a quedar vacantes en España varias cátedras de Fisiología y Bioquímica, a las que podíamos optar prioritariamente los escasos profesores

agregados de que disponía el país. En ningún momento me había planteado regresar de Estados Unidos a otro lugar que no fuera Madrid. Sin embargo, mi amigo Benito Herreros me escribió contándome que había muerto el titular de la cátedra de Fisiología de la Universidad de Valladolid y que él no había conseguido la plaza de profesor agregado que la universidad había ofrecido pensando en él. Por eso me pedía encarecidamente que me animara a intentar obtener esa cátedra entonces vacante. Antonio Gallego me aconsejó considerar seriamente esa posibilidad. Desde la distancia, el regreso a Madrid ya no me resultaba tan obvio y atractivo. Parecía evidente que, en Madrid, me resultaría muy difícil permanecer al margen de los tejemanejes políticos y universitarios y que estos no me distrajeran de mis intereses científicos y de la vida familiar. Por otro lado, el desafío de formar mi propio grupo de investigación independiente en una universidad más pequeña y desconocida para mí resultaba tentador. Mi tío Nicolás era catedrático de Oftalmología en Valladolid, y teniendo en cuenta nuestra estrecha relación familiar, su presencia allí añadía un aliciente personal más al traslado a esa universidad. Finalmente, opté a la cátedra de Fisiología General, Química Biológica y Fisiología Especial de la Facultad de Medicina de Valladolid y la obtuve.

A principios del verano de 1973, me presenté en esa ciudad, lleno de planes de futuro, para conocer mi nuevo destino en una universidad con fama de muy conservadora. Yo tenía entonces veintinueve años y me acompañaba en la visita Roberto Gallego, cinco años más joven. El conserje que controlaba la entrada a la Facultad de Medicina, cuando nos vio dirigirnos a un ascensor señalado como «Solo para profesores», nos hizo saber que los alumnos no estaban autorizados a utilizarlo, anécdota que me recordaba, con respetuoso embarazo cada vez que lo veía, durante los años siguientes.

La cátedra tenía laboratorios amplios, pero casi vacíos. Benito Herreros era el único profesor que hacía investigación, como profesor adjunto con dedicación exclusiva. Formado en Inglaterra, donde había publicado de manera muy destacada, estudiaba, en unas condiciones bastante precarias, los mecanismos biofísicos del transporte de membrana con la ayuda de un pequeño grupo de estudiantes brillantes y motivados. La cátedra disponía de dos profesores adjuntos más, docentes competentes pero a quienes la actividad profesional clínica impedía realizar investigación. El número de alumnos por curso (Bioquímica en primero, Fisiología en segundo y pronto también Biología General) se acercaba al millar y la carga docente era abrumadora, obligándonos a repetir la misma clase a tres grupos de estudiantes el mismo día. En aquellos años, la bioquímica era una ciencia en plena expansión científica pero que en las facultades de Medicina seguía algo relegada como «Química Biológica», dentro de una única cátedra de Fisiología.

Para intentar poner fin en Valladolid a lo que consideraba un atraso, pedí a Alberto Sols, probablemente el más prestigioso bioquímico español del momento, que me pusiera en contacto con algún bioquímico joven y valioso de su centro que pudiera estar interesado en incorporarse a la carrera universitaria. Me recomendó a Antonio Sillero y María Antonia Günther, un matrimonio de brillantes bioquímicos, discípulos de Severo Ochoa reincorporados a su instituto, que utilizaban la *Artemia salina* como modelo para el estudio de diversos procesos celulares implicados en el desarrollo. Tras múltiples peripecias,

incluyendo la de intentar lograr el dinero para modernizar laboratorios y equipos y dotar una plaza de agregado para Benito Herreros y otra para Antonio Sillero, conseguimos traerlos. María Antonia se incorporó como científica visitante del CSIC. Gracias a estos movimientos, Benito consolidó su grupo y Antonio y María Antonia, que habían venido con algunos de sus colaboradores de Madrid, se expandieron rápidamente, atrayendo a nuevos estudiantes. Como excelentes científicos y mejores personas que eran, los tres montaron a un nivel internacional sus líneas de investigación respectivas en biofísica y biología molecular.

En mi caso, era consciente de que la dedicación personal al laboratorio para instruir a mis estudiantes venía limitada por las obligaciones en la dirección del que ya era Departamento de Fisiología y Bioquímica. Para compensarlo, envié a los alumnos internos a Estados Unidos en cuanto se graduaron y fui admitiendo a algunos nuevos para trabajar conmigo en el laboratorio. La incorporación a Valladolid, cinco años más tarde, de Roberto Gallego como profesor adjunto, tras una larga formación en Estados Unidos, reforzó decisivamente nuestra investigación neurofisiológica. Me tocó también como tarea adicional asociada a la dirección del Departamento de Fisiología y Bioquímica organizar y montar el laboratorio de Análisis Clínicos del recién terminado Hospital Universitario, con más de cien personas a mi cargo.

En esos años, traté de mantenerme al día en neurofisiología experimental con varias estancias veraniegas en Estados Unidos y asistencia a congresos, a la vez que dirigía y supervisaba el trabajo de mis estudiantes y graduados. En ese periodo nos centramos en el estudio de las propiedades de membrana de las neuronas sensoriales quimio y barorreceptoras, caracterizamos los receptores de dolor de la córnea del ojo y definimos algunos de los componentes neurales, sensoriales y autonómicos que participaban en la regulación de la presión intraocular.

La experiencia vallisoletana resultó para mí muy gratificante y enriquecedora, tanto en el terreno personal —allí nació mi hija Isabel— como en el profesional. Por primera vez tuve la oportunidad de desarrollar mis propias ideas y de aplicar en España lo que había aprendido fuera, intentando fomentar una investigación científica con ambiciones de proyección internacional, con reuniones y visitas de colegas extranjeros e intercambio de científicos. Mi estancia en Valladolid coincidió con tiempos políticamente revueltos en toda España y con una gran agitación estudiantil en esa ciudad, muy polarizada políticamente y en la que la universidad servía de punto de encuentro de los impulsores de la democracia. La docencia se veía continuamente interrumpida por manifestaciones y protestas. Como resultado de los conflictos, se produjo el cierre de la Universidad Valladolid por el Gobierno durante un curso entero.

En esos todavía tímidos inicios de la democracia tuve que debatirme, durante el tiempo que actué como vicedecano de la Facultad de Medicina, entre el deseo de favorecer la apertura política y la convicción de que, a pesar de todo, la universidad debía cumplir sus fines y seguir avanzando en calidad docente e investigadora. Había aceptado ese cargo fundamentalmente para luchar por la implantación del númerus clausus en Medicina y dimití al hacer público el Gobierno su negativa a promoverlo.

Cuando abandoné Valladolid en el verano de 1980 para trasladarme a Alicante, lo hice con la íntima satisfacción de dejar atrás un departamento moderno con más de una veintena de investigadores jóvenes, brillantes y bien preparados. De los numerosos estudiantes que se formaron en fisiología durante ese periodo, acabaron siendo catedráticos de esta disciplina y creadores a su vez de magníficos grupos de investigación Constancio González, Javier García Sancho, Ana Sánchez, Arcadi Gual, Fernando Giraldez, Emilio Geijo, Miguel Valdeolmillos, Ana Obeso, Ricardo Rigual y Laura Almaraz; sin citar a muchos otros que lo fueron en bioquímica, desde los grupos de Antonio Sillero y Benito Herreros. Forjé también una sólida amistad con muchos colegas de la Universidad de Valladolid que, con la lealtad que caracteriza a los castellanos viejos, se mantiene incólume treinta y cinco años después.

A pesar de haber salido de Alicante a los dieciséis años, mi relación con esa ciudad seguía viva y es donde pasábamos todas las vacaciones familiares, pero nunca pensé seriamente que volvería a vivir allí. La posibilidad surgió de manera inopinada, cuando el primer gobierno democrático decidió ampliar el número de universidades del país y aprovechar para ello colegios universitarios, en los que se estudiaba la primera mitad de ciertas carreras y que dependían de la universidad matriz del distrito. En la primavera de 1979 recibí una llamada de Antonio Gil Olcina, catedrático de Geografía de Valencia, informándome de que, siguiendo esos criterios, se creaba la Universidad de Alicante, de cuya Comisión Gestora había sido nombrado rector-presidente por el ministro de Educación. Me propuso ser primer vicerrector, ayudándole sobre todo a montar la Facultad de Medicina.

La oferta de empezar una universidad desde cero resultaba muy tentadora a mis treinta y seis años, ya que como catedrático de una de las universidades más antiguas de España tenía la impresión de que en las universidades tradicionales resultaba difícil ir mucho más lejos de lo que ya había visto en Valladolid en siete años. Roberto Gallego y Milagros García Barbero estaban dispuestos a trasladarse también a Alicante. Además, desde esta ciudad me daban ánimos y llegaban presiones y ofertas de ayuda de amigos y fuerzas locales. Ciertamente, era una decisión arriesgada que, como siempre en nuestra vida común, mi mujer y yo adoptamos juntos. Representaba, entre otras cosas, reducir los ingresos familiares a casi la mitad. Al final, pensamos que es mejor arrepentirse de una decisión errónea que añorar toda la vida no haberse atrevido a tomarla y nos trasladamos a Alicante.

Resulta difícil imaginar hoy el esfuerzo que supuso para el minúsculo equipo rectoral que puso en marcha la universidad transformar un colegio universitario situado en los destartalados barracones de un aeródromo militar abandonado, con profesorado en su mayoría local y sin vivencias ni experiencia universitaria previa, en una universidad seria. Empezamos teniendo como única dotación económica del Ministerio de Educación los sueldos del rector y el vicerrector. La universidad empezó a funcionar sin despachos para el equipo de gobierno, con una sola secretaria prestada por el director del colegio, partidas económicas escasas y erráticas y ausencia de presupuesto propio durante el primer año. El trabajo comprendía desde el diseño de los planes de estudio, la captación de profesores o la organización docente, hasta el mantenimiento del viejo transformador eléctrico, incluyendo la confiscación de estufas a los profe-

sores en el primer invierno para evitar que saltara la luz y tuvieran que suspenderse las clases. Es de justicia señalar que la sociedad alicantina se volcó en ayudarnos.

También la Facultad de Medicina hubo de diseñarse en un contexto peculiar, que incluía la carencia de profesorado de carrera y de hospital universitario, elemento entonces esencial para atraer a profesorado clínico. Mano a mano con Alfonso Puchades, antiguo compañero de facultad y entrañable amigo, director hasta entonces del Colegio Universitario de Alicante y catedrático de Anatomía al que nombramos enseguida decano-comisario de la facultad, y con el concurso de los primeros profesores universitarios de carrera que fuimos reclutando, nos afanamos en la tarea de diseñar una facultad nueva y moderna. Modificamos el currículum existente de manera profunda, añadiendo nuevos conocimientos científicos y aspectos sociales como la economía o la relación con el paciente. Definimos explícitamente los objetivos de conocimiento, de adquisición de actitudes y de destrezas de toda la carrera y pusimos a los estudiantes en contacto con el medio hospitalario y centros de salud desde el primer año de carrera. Rompimos el marco de las asignaturas, tratando de integrar estas en áreas más coherentes como, por ejemplo, estructura y función de los diferentes aparatos y sistemas en la salud y la enfermedad, buscando eliminar repeticiones e implantando un sistema de evaluación que incluía todo lo enseñado hasta el momento. Una novedad significativa fue la creación de una Unidad de Educación Médica, destinada a la planificación, coordinación y ejecución de todas las actividades docentes de alumnos y profesores y de la que Milagros García Barbero fue el alma.

Para la enseñanza clínica incorporamos a todos los jefes de servicio y médicos de los hospitales públicos y centros de salud y les pedimos participar en la redacción de los objetivos de cada contenido de la enseñanza clínica. Finalmente, conseguimos que la Diputación Provincial construyera un nuevo hospital orientado a la docencia, en San Juan de Alicante.

Personalmente me involucré mucho en la tarea de diseñar este hospital, junto a su extraordinario arquitecto, Alfonso Casares, y nos basamos en el criterio de que los hospitales en la medicina del futuro se orientarían más hacia la disponibilidad de técnicas diagnósticas y terapéuticas sofisticadas que a un elevado número de camas hospitalarias y con la idea de que un médico científico necesita disponer de espacio personal para el estudio individual y la investigación. Costó años de incomprensión y de luchas políticas lograr que el hospital finalmente se terminara y equipara instrumentalmente, labor de la que también tuve que encargarme por decisión del consejero de Sanidad del Gobierno valenciano, a principios de 1997, tras terminarse el hospital.

El plan de estudios de la nueva Facultad de Medicina era heterodoxo en muchos aspectos y en algunos decididamente alegal, pero en la salida de la dictadura, la universidad entera estaba sometida a un proceso de revisión de su modelo y fines y eso nos permitió actuar sin demasiadas ataduras formales para poder desarrollar esas nuevas ideas. Los primeros licenciados de la Facultad de Medicina de Alicante empezaron a colocarse en los puestos más altos del examen MIR y el «Modelo Alicante», como se lo conoció, inspiró muchas de las reformas de los planes de estudios de las facultades de Medicina españolas implantadas por el Gobierno central pocos años después.

En el momento de gestación de la Facultad de Medicina, definimos también su estrategia en investigación, buscando evitar una dispersión de temas que implicara un trabajo científico testimonial y de calidad limitada. Elegimos como tema común prioritario de investigación las neurociencias, un área biomédica multidisciplinaria, prometedora y poco explorada. Tratamos que los futuros profesores, especialmente en las materias básicas, además de una alta competencia en su particular disciplina docente, estuvieran desarrollando trabajo experimental en neurobiología. Roberto Gallego a la cabeza de los neurofisiólogos venidos de Valladolid, Jaime Merchán en Morfología, Antonio García en Farmacología y José Manuel González-Ros en Bioquímica fueron los principales líderes de los grupos formados dentro de sus áreas respectivas. A mediados de los años ochenta, aprovechando la Ley de Reforma Universitaria, dimos carácter formal a esta interacción, fundando el Instituto Universitario de Neurociencias adscrito a la Universidad de Alicante, del que fui primer director.

Los años dedicados a la creación de la Universidad de Alicante y de su Facultad de Medicina representaron para mí un periodo de exaltación y también una gran aventura personal. Al cerrarse el ciclo fundacional de la nueva universidad presidido por su primer equipo gestor, dejé el vicerrectorado. Tratando de culminar la consolidación de la Facultad de Medicina, me presenté a la elección y fui su primer decano electo. A medida que transcurría el tiempo iban surgiendo las lógicas discrepancias internas entre quienes defendíamos la bondad de nuestro peculiar sistema de docencia y quienes lo criticaban, por ser muy demandante para profesores y alumnos. Además, algunos de los nuevos catedráticos se resentían de la pérdida de poder y protagonismo personal que implicaba. Tras cinco años liderando en gran medida ese modelo de facultad, consideré que mi tiempo había terminado y correspondía a otros asumir la tarea. Dejé el decanato y, para reiniciar mi trabajo de investigación, pasé en 1986 un año sabático en Estados Unidos. De él pase seis meses en la Retina Foundation y el Departamento de Oftalmología de Harvard, trabajando en regulación simpática de la secreción de humor acuoso, y otros seis más en Utah, dedicado a estudiar la modulación de los nociceptores articulares por el ácido hialurónico.

A mi regreso, la Universidad de Alicante, ubicada en el campus de San Vicente, había iniciado un desarrollo acelerado de centros, carreras y profesorado. El nuevo edificio de la Facultad de Medicina se terminaba de construir en el pueblo de San Juan, junto al nuevo Hospital Universitario, formando con este un campus separado, al que nos trasladamos los médicos. Durante los años siguientes compaginé mi trabajo científico personal, centrado en la nocicepción periférica, con el cargo de director del Instituto de Neurociencias, para el que fui reelegido por mis colegas de manera continua hasta mi renuncia en 2007. Entre todos los investigadores lo hicimos crecer muy rápidamente en calidad y cantidad. Estábamos en momentos de mucha controversia pública y la universidad se había politizado de modo notable y devenido en un campo de batalla para partidos y sindicatos. El rápido desarrollo científico, el protagonismo social y la influencia de la Facultad de Medicina y el Instituto de Neurociencias empezó a ser visto con creciente reticencia por colegas de otras facultades y por las autoridades universitarias. Además, para estas resultaba algo irritante la presión de los neurocientíficos, que exigían mayor atención y apoyo a su pujante investigación frente a su proclividad al «café para todos».

Como representante del Instituto de Neurociencias en la Junta de Gobierno de la Universidad, me convertí en la principal voz discrepante de esa política científica oficial, que me parecía basada más en criterios parroquiales y lealtades personales que en la búsqueda del avance científico y docente y el cultivo de la excelencia. Mi condición de «miembro fundador» de la Universidad, los reconocimientos públicos que iba recibiendo por mi trabajo científico, como el Premio Nacional Jaime I, o incluso la inauguración de una calle con mi nombre y, sobre todo, el sólido apoyo que me brindaban mis colegas del instituto y de la facultad, me proporcionaron legitimidad para hablar alto y claro. Eso, y la envidia que provocaba el éxito científico del instituto, hizo que sufriéramos cortapisas y mezquindades como ha ocurrido frecuentemente, antes y ahora, en la vida universitaria española. Pese a todo, la Generalitat Valenciana aprobó por fin oficialmente, en 1994, la conversión del instituto Universitario de Neurociencias de Alicante en un centro de carácter nacional. Además, el instituto pasó a ser, tras una laboriosa negociación con la presidencia del CSIC, una unidad asociada de este, lo que permitió el traslado de algunos científicos del Instituto Cajal del CSIC al de Neurociencias de Alicante, reforzando su crecimiento.

La calidad de la investigación del Instituto de Neurociencias y su proyección internacional crecieron rápidamente en la primera mitad de los años noventa. En paralelo, se fue ahondando su distanciamiento de los gestores de la Universidad de Alicante, que continuamente le negaban dotaciones en los presupuestos generales de equipamientos o de fondos para un edificio propio, pese a los pujantes planes de expansión que en ese momento desarrollaba. En 1995 cambió el Gobierno autonómico y el nuevo presidente de la Generalitat y el rector, de signos políticos opuestos, se enfrentaron directamente. Este último había planteado al Gobierno autonómico anterior crear un tercer campus dentro de la Universidad de Alicante, situado en Elche, con el fin de absorber el rápido crecimiento de alumnado de la provincia.

El nuevo Gobierno decidió, en cambio, fundar una segunda universidad, independiente administrativamente de la de Alicante, la Universidad Miguel Hernández (UMH), con un campus principal en Elche y otros en Orihuela y Altea. Adscribió además el campus de San Juan, perteneciente a la Universidad de Alicante, con la Facultad de Medicina y el Instituto de Neurociencias, a la nueva universidad para que esta dispusiera desde su inicio de dos centros con reconocido prestigio académico y científico, con el propósito de que actuaran como motor intelectual. Esta decisión tropezó, como cabía esperar, con la radical oposición del equipo de gobierno de la Universidad de Alicante, pero contó con el apoyo muy mayoritario del profesorado y los científicos de la Facultad de Medicina y el Instituto de Neurociencias, ya que ambos centros veían en la nueva universidad la oportunidad de terminar con el bloqueo al que habían estado sometidos en los últimos años por los gestores de la Universidad de Alicante. Además, la adscripción de estos centros a la nueva universidad provocó un terremoto político y social e incluso un recurso de inconstitucionalidad por atentado a la autonomía universitaria, presentado por cincuenta parlamentarios del Partido Socialista, que fue finalmente desestimado.

Yo me posicioné públicamente a favor de la segregación, ya que abría por fin la posibilidad de transformar nuestro instituto en el centro de excelencia al que aspirábamos. Recibí por

ello las acusaciones y críticas furibundas de muchos colegas de la Universidad de Alicante. Vistas retrospectivamente, estas parecen haber estado más fundadas en la lucha por el poder universitario, las emociones y los corporativismos de cortos vuelos que en la valoración objetiva de las ventajas que la expansión universitaria, al margen del modelo administrativo escogido para ella, acabaría representando para el progreso de la enseñanza y la investigación universitarias en la provincia de Alicante. Aunque formé parte del primer Consejo Rector de la Universidad Miguel Hernández (UMH) y participé en el diseño de las etapas iniciales de esta, me mantuve formalmente distanciado de su gestión y me centré prioritariamente en culminar el desarrollo del Instituto de Neurociencias aprovechando las ahora más favorables circunstancias. En los años siguientes, lo convertimos en un Centro Mixto de la UMH y del CSIC, consiguiendo también los fondos para iniciar la construcción de un edificio propio que lo alojara.

Al poco de crearse la UMH, me fue concedido un premio nacional, la Cátedra Severo Ochoa, que financiaba la estancia durante un año del galardonado en un centro científico, nacional o extranjero de su elección. En 1997 decidí emplearlo para ir, como profesor invitado un par de meses, al Prince of Wales Medical Research Institute y a la Universidad de Nueva Gales del Sur, en Australia, donde colaboré con E. McLachlan y J. Brock. Continué inmediatamente después mi año sabático en el Departamento de Neurobiología de Harvard junto a D. Hubel y E. Raviola, y sus últimos tres meses en mi antiguo Departamento de Fisiología en Utah, colaborando con S. Fidone. Un periodo personalmente placentero y muy útil en el terreno profesional para actualizar mi trabajo.

Estando en Utah recibí una llamada de Albert Aguayo, presidente del Comité de Nominaciones de la International Brain Research Organization (IBRO), para proponerme ser candidato al puesto de secretario general de esta organización. Fui elegido en 1998 por su Governing Council y empecé mi labor en el mes de enero de 1999. La IBRO, que era y es la primera y mayor organización de neurociencias en el mundo, se estaba rezagando en su adaptación a los profundos cambios y la expansión que se estaba produciendo en la neurociencia mundial.

Mi primera acción como secretario general fue reunir en nuestras oficinas de París un comité de cinco neurocientíficos de todo el mundo, que pedí que presidiese a Torsten Wiesel, entonces presidente de la Rockefeller University y premio Nobel. Diseñamos una profunda reforma en la organización de la IBRO, descentralizando su estructura de gobierno, definiendo y limitando los mandatos de sus gobernantes y estableciendo regiones mundiales con gobierno propio y gran autonomía de gestión.

El secretario general tenía entonces un poder ejecutivo casi absoluto, y tuve que realizar un frenético periplo internacional para convencer de la bondad de los cambios que proponíamos a los dirigentes más significativos dentro de las ochenta y cuatro sociedades de neurociencias de todo el planeta que se agrupan en la IBRO. Estas incluían a la Society for Neuroscience norteamericana, la European Neuroscience Association de entonces y la Asociación Africana de Neurociencias, además de sociedades nacionales en todos los continentes. Afortunadamente, conté para ello con el apoyo inestimable de Torsten Wiesel,

que fue elegido presidente de la IBRO un año después. El cargo de secretario general supuso para mí una experiencia inigualable, al permitirme conocer a los más destacados neurocientíficos del mundo y relacionarme con ellos y obtener una privilegiada visión de la diversidad y avances de la investigación del cerebro en países muy diferentes, así como apreciar la influencia en la investigación de los componentes culturales.

De acuerdo con las reglas que yo mismo había promovido, dejé el puesto no reelegible de secretario general a los tres años y me concentré de nuevo en mi trabajo científico y de dirección del Instituto de Neurociencias, enfrascado este en la batalla de terminar la construcción y el equipamiento de su nuevo edificio, reclutar a varios investigadores brillantes y reconocidos como líderes de grupos y atraer a otros más jóvenes con el entonces recién creado programa Ramón y Cajal, para que se convirtieran, como finalmente ocurrió, en una nueva generación de neurocientíficos españoles, claramente homologada con los estándares internacionales.

Mi trabajo investigador durante esa etapa hasta hoy se ha apoyado en la colaboración con Juana Gallar en el terreno de la investigación ocular y con Félix Viana en el de la neurobiología sensorial, junto a sus colaboradores de la siguiente generación. Debo señalar que mi labor académica y científica ha sido recompensada, en España y fuera de ella, y quizá de modo en exceso generoso, con premios nacionales e internacionales, elección para comités científicos, conferencias plenarias, pertenencia a academias, un doctorado honoris causa, etcétera.

En 2006, doña Sofía, reina de España, aceptó inaugurar nuestro por fin recién estrenado edificio del instituto de Neurociencias. Había sido ininterrumpidamente su director durante más de dos décadas y aproveché este hito para anunciar mi propósito de abandonar el cargo en el mes de octubre y pasar la responsabilidad a Juan Lerma, vicedirector durante los dos años anteriores. Retrospectivamente, me satisface confirmar lo acertado de esta decisión, inspirada en el plano personal por el consejo de Cajal de que «hay que dejar los cargos antes de que estos te dejen a ti» y porque, además, Juan Lerma trajo al instituto nuevas ideas e iniciativas, expandiéndolo y consolidándolo, dentro y fuera de España, como el primer centro de investigación neurocientífica del país.

No dispuse, sin embargo, del sosiego personal que hubiera cabido esperar en esta nueva situación tras mi renuncia, ya que en 2007 fui propuesto y elegido presidente de la IBRO durante dos mandatos sucesivos de tres años, lo que me sumergió de nuevo, aunque haya sido con algo más de tranquilidad y experiencia que en la anterior oportunidad, en la gestión y promoción de la neurociencia internacional. Gracias al apoyo de la Fundación Botín abrí una línea de investigación aplicada que ha culminado con una patente y un *spin off* de la Universidad Miguel Hernández. En estos últimos seis años he contribuido también a fundar en Oviedo, asociado al Instituto de Oftalmología Fernández Vega, un centro de investigación ocular que se ha ido convirtiendo en un prometedor punto de encuentro español de la investigación experimental y clínica en las ciencias de la visión.

Escribo estas líneas en los últimos días del año 2014, recién adquirido el estatus de profesor emérito en mi Universidad, pero manteniendo aún activos mi laboratorio y las colaboraciones

con mis colegas del instituto y de fuera de él. Desde la perspectiva de los años, todavía considero la investigación científica como la actividad más divertida y gratificante de las muchas que he desarrollado en la vida. Mis contribuciones a esta pueden, con el tamiz del tiempo, resumirse ya en pocas líneas, reconociendo además que fueron, casi siempre, fruto del esfuerzo de mis colaboradores más que del mío propio.

En fisiología sensorial general, me enorgullezco de haber participado en descubrir que las propiedades de las neuronas sensoriales primarias dependen dinámicamente del tejido que inervan. Y que los nociceptores polimodales poseen un mecanismo molecular común para la transducción de los estímulos de calor y químico, diferente del utilizado para los estímulos mecánicos, observación confirmada molecularmente por D. Julius con la clonación del canal iónico TRPV1. También, de haber sido el primero en registrar la actividad eléctrica en una terminación nerviosa sensorial de mamífero in vivo y de definir el mecanismo de acción del ácido hialurónico en la modulación de los nociceptores articulares. En tiempos recientes hemos establecido que la transducción y codificación del frío por sus termorreceptores depende de diversos canales de potasio, además del canal TRPM8 y obtenido evidencia de que esos receptores de frío participan de modo importante en la regulación de la humedad de las mucosas, especialmente las oculares.

Contaba al principio cómo no quise seguir la tendencia familiar y dedicarme a la oftalmología. Como neurofisiólogo, pronto definí mi interés por estudiar los mecanismos de transducción y codificación en los receptores sensoriales periféricos, somatosensoriales y viscerales, una elección apoyada en la evidencia de que la investigación sobre mecanismos cerebrales complejos requería una tecnología sofisticada y cara, inaccesible entonces en España. Antonio Gallego decidió que mi tesis doctoral sería sobre regulación nerviosa de la presión intraocular, lo que me llevó al ojo, objeto de estudio en la familia, y así ocurrió de nuevo durante mi colaboración con Keffer Hartline.

Al regresar de Estados Unidos, pensando en explorar si la acetilcolina era un mediador en la transducción sensorial como ocurría en los quimiorreceptores, averigüé que la córnea, riquísima en terminaciones sensoriales de dolor, era el tejido del organismo con mayor contenido en acetilcolina, lo que sugería su mediación en la nocicepción. Pese a no confirmar esta hipótesis, el estudio con este fin de la córnea me llevó, esta vez ya definitivamente, al ojo como modelo experimental. Mis hallazgos más significativos en investigación ocular se resumen en haber definido por vez primera los diferentes tipos funcionales de receptores sensoriales que posee el ojo y sus respuestas a diferentes estímulos en condiciones normales o de inflamación y lesión; en caracterizar la correlación entre la actividad en esos receptores y las sensaciones conscientes de origen ocular en humanos, desarrollando un estesiómetro que anda por el mundo con mi nombre y en mostrar que la secreción lagrimal basal esta modulada por los receptores de frío de la superficie ocular.

En esta quizá demasiado prolija descripción de mi trayectoria profesional, he dejado deliberadamente aparte las vivencias emocionales que la acompañaron y dieron color. Incluyen el dolor, inmenso e inconsolable, por la muerte súbita de mi hija y el cariño profundo e incondicional por mi mujer y mis hijos. También la alegría que acompañó a cada pequeño

logro y el gozo por el afecto recibido de los muchos buenos amigos que he tenido la fortuna de disfrutar. A todos ellos, así como a los jóvenes de los que he estado siempre rodeado, aprendiendo de sus afanes e ilusiones, debo expresar mi gratitud por haber contribuido de manera decisiva a hacer mejor una vida que podría resumirse diciendo que no ha resultado, en ningún momento, rutinaria o aburrida.

JESÚS ÁVILA

MI RELACIÓN CON LA FUNDACIÓN BOTÍN

6

Hace diez años, la Fundación Botín inició un programa de apoyo a la biomedicina y la bioingeniería totalmente novedoso en nuestro país y con alguna similitud con el programa Howard Hughes de Estados Unidos. Recuerdo muy bien cuando el artífice del proyecto, don Pedro García Barreno, vino a proponerme que me incorporara a dicho programa. Pensé que en nuestra profesión hay días excelentes, aunque sean más bien pocos, y que el día de su visita podría ser uno de ellos. No me equivoqué. Después de estos diez años me siento orgulloso de ser miembro de este proyecto y honrado por ser considerado por el resto de mis colegas, reconocidos por la Fundación, como uno de los suyos.

Para conmemorar los diez años, don Pedro nos ha enviado una carta solicitándonos un breve apunte biográfico, y nos ha incluido un par de referencias como guía para hacerlo. Se suele empezar en las biografías diciendo quiénes somos y de dónde venimos. No hace mucho, Javier Marías se hacía esta pregunta en uno de sus artículos del suplemento dominical de *El País* y citaba a Teilhard de Chardin, que decía, más o menos, que somos la suma de todos los que nos precedieron y además somos todo lo que nos ha influido. De hecho, somos una pequeña parte de una sociedad y nuestra existencia suele definirse más bien en función de dicha sociedad que de nuestro individualismo, ya que dependemos mucho de nuestros antecesores, coetáneos y sucesores y, en gran medida, como se representa en la estatua que está delante de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, somos como un mensajero que recibimos una antorcha de quien nos precedió para dársela al que viene detrás de nosotros. Sobre los que me antecedieron, empezaré por mis padres. Mi padre era de Toledo, pero vivió en Madrid desde los siete años. Por parte de madre, su familia era de Madrid (dos generaciones), y anteriormente vivieron en Segovia. Mis padres murieron hace años y ahora mi familia más próxima no es Ávila de Grado, con mis padres y hermanas, sino Ávila Villanueva, con mi mujer Nieves y mi hija Marina.

Aunque estaba destinado a trabajar en el comercio, mis padres me mandaron a hacer el bachillerato en el instituto Ramiro de Maeztu, un buen sitio para aprender latín, filosofía, literatura y ciencias naturales. En estas asignaturas tuve excelentes profesores y en otras los profesores no eran malos. Sin embargo, un aspecto muy importante en el instituto era jugar bien al baloncesto, algo en donde no destacaban los bajitos como yo. Posteriormente, hice Químicas en la Complutense de Madrid. En la carrera tuve todo tipo de profesores. En general eran buenos, pero distantes. Los que más me gustaron fueron los de la rama de Química Orgánica y alguno de Química Física. Después de acabar la carrera, y tras una breve estancia en la junta de energía Nuclear, empecé mi tesis en un campo totalmente nuevo para mí, la biología molecular. Mis maestros en esa nueva etapa fueron los

doctores Viñuela y Salas. A ambos les sigo teniendo no solo un gran afecto, sino un gran respeto, aunque, nada más llegar a su laboratorio, me indicaron que les debía llamar Eladio y Margarita. Margarita fue mi directora de tesis. De hecho fui su primer doctorando. Le debo mucho, pues dada mi falta de aptitudes manuales para trabajar en una ciencia experimental, me fue señalando cómo realizar los experimentos para obtener resultados fiables y reproducibles, aunque para lograrlo tuviera que dedicar el doble de tiempo que mis compañeros —que, por cierto, eran buena gente y más mañosos—. La clave era hacer controles, controles y controles. Afortunadamente, las personas que trabajaron posteriormente conmigo para hacer sus tesis, o estancias posdoctorales, no tenían ninguno de mis déficits manuales. Por otro lado, mis limitaciones facilitaron que desarrollara más mi memoria y sentido del orden para poner mis cinco sentidos en lo que estaba haciendo, anotarlo y saber en cada momento qué proceso debía realizar.

Tras dedicar muchas horas al trabajo de poyata, pasar largas estancias en la cámara fría a 4 °C o en el cuarto del fermentador a 30 °C —recibiendo, de vez en cuando, algún calambre—, fui obteniendo resultados. Intenté compaginar los fríos, calores, humedades y descargas de electricidad, y pude finalmente acabar mi tesis doctoral sobre la caracterización de la ARN polimerasa de *Bacillus subtilis*, publicando mi primer trabajo en la revista *Nature*. En esa época trabajé intensamente —en otras también—, y tuve la ayuda de varios de mis compañeros del Instituto Marañón (CSIC), en donde realicé la tesis. Varios de estos compañeros eran del grupo de Eladio y Margarita, pero también conocí a becarios y becarias de otros grupos, de la cuarta planta, del CIB (CSIC), en la que se localizaba el instituto. De ellos aprendí mucho, y eso es algo de agradecer.

Después de una breve estancia posdoctoral en el grupo de Eladio y Margarita me mudé al NIH, a Bethesda, Maryland. Allí trabajé bajo la tutela del doctor Robert G. Martin en un virus que infectaba a células eucariotas (de mono), el virus SV40, que al igual que el bacteriófago Φ29 de Viñuela-Salas, tenía un ADN de pequeño tamaño, por lo que era un modelo sencillo para estudiar transformación celular o, exagerando un poco, oncogénesis. Allí aprendí el cultivo de células de mamíferos y, tras algunas publicaciones en revistas como *Journal of Virology* o *Virology*, empecé a saber sobre otros temas, pues el NIH era un lugar en donde uno podía asistir a un buen seminario a cualquier hora del día. Además, en el mismo edificio donde trabajaba estaba el grupo del doctor Gary Felsenfeld, uno de los más relevantes, internacionalmente, en el estudio de la cromatina. Casualmente, uno de los miembros del grupo era Richard Axel, con el que interaccioné y del que aprendí muchas cosas. Junto con Eladio Viñuela, creo que ha sido una de las personas cuya inteligencia natural más me ha impresionado, y me pareció más que merecido que con el tiempo le dieran el Premio Nobel en Medicina por sus estudios sobre el sentido del olfato. De hecho, se lo podrían haber dado por cualquiera de sus trabajos en los que se involucró, ya que era brillante en todo lo que hacía.

Tras mi estancia en Estados Unidos, venía con interés por investigar y conocer más sobre las células eucariotas, sobre su proliferación y división, y para ir a algo más concreto, saber más sobre la mitosis. A mi vuelta al Instituto de Biología Molecular del CSIC, dirigido por Eladio Viñuela, encontré al grupo de los hermanos José y Marisa Salas, que trabajaban

allí en el ciclo celular, lo más parecido que había a la mitosis en concreto. Empecé a colaborar con ellos hasta que, gracias a la generosidad de Eladio, empecé, junto a Víctor G. Corcés, a crear mi propio grupo. Empezamos a trabajar sobre el componente mayoritario del huso mitótico, los microtúbulos, polímeros formados por tubulina. Todavía recuerdo cuando Eladio nos compró colchicina-H3, para poder caracterizar la tubulina de cerebro de cerdo, cerebro que nos daba tras haber obtenido las células de sangre para sus análisis de infección con el virus de la peste porcina africana.

Afortunadamente, nuestra primera publicación como grupo independiente fue también en la revista *Nature*, y eso nos ayudó a estabilizarnos.

Posteriormente, el grupo fue creciendo con la llegada de más personas, en varios casos más inteligentes que yo, pero que no me superaban en entusiasmo e interés. Sin estas personas no habría podido hacer prácticamente nada, puesto que ellas fueron las que iban descubriendo y sugiriendo cómo continuar (una tabla con los nombres de muchas de estas personas se incluye al final). Por ejemplo, hablando con algunas de ellas, se llegó a la obviedad de que, dado que la tubulina era fundamentalmente abundante en el cerebro (alrededor del 20% de un extracto soluble de cerebro es tubulina), debía de ser importante su función en el cerebro y que para conocer la(s) función(es) de la tubulina podría ser aconsejable trabajar en cerebro, algo que, por otra parte, siempre me había atraído.

Empezamos a analizar los microtúbulos obtenidos de cerebro de cerdo, de vaca o de rata y, tras conocer algunos mataderos de la región (fundamentalmente para cerebro de vaca, ya que los de los cerdos y las ratas las solíamos obtener del instituto) comenzamos a trabajar no solo con tubulina, sino con las proteínas asociadas a microtúbulos como MAP1A, MAP1B, MAP2, etcétera, hasta llegar a la proteína tau. Esta proteína nos daría mucho juego. Así pues, nuestro trabajo se inició con la caracterización de la posible función de las proteínas microtubulares en el proceso de mitosis.[1] Posteriormente, y dado que la tubulina es el componente fundamental de los microtúbulos, la relación estructura-función en esta proteína fue estudiada, describiéndose por primera vez la importancia de la región carboxilo-terminal de la proteína en la regulación del ensamblaje de microtúbulos. Esta región es el lugar de interacción de las proteínas asociadas a los microtúbulos (MAP), que facilitan el ensamblaje del microtúbulo.[2] También se observó que la región C-terminal de la tubulina era una buena diana para modificaciones postransduccionales.[3] Allí encontramos también la región dónde se unían inhibidores del ensamblaje de la proteína como el calcio.[4] También se estudió, en colaboración con el grupo de J. C. Zabala (Universidad de Cantabria), algunos aspectos sobre el plegamiento de la tubulina.[5] Adicionalmente, se describió en colaboración con el doctor Ripoll una nueva MAP en invertebrados, con una función en la división celular (mitosis).[6] Esta proteína, ASP, ha sido posteriormente muy estudiada por otros grupos debido a su función en el desarrollo de la corteza cerebral en humanos (la proteína humana se conoce como ASPM).

Dado que la tubulina es la proteína que está en mayor cantidad en el cerebro de los vertebrados, en una etapa posterior se investigaron las características de las proteínas microtubulares, tubulina y MAP presentes en el cerebro. Se analizaron algunas MAP,

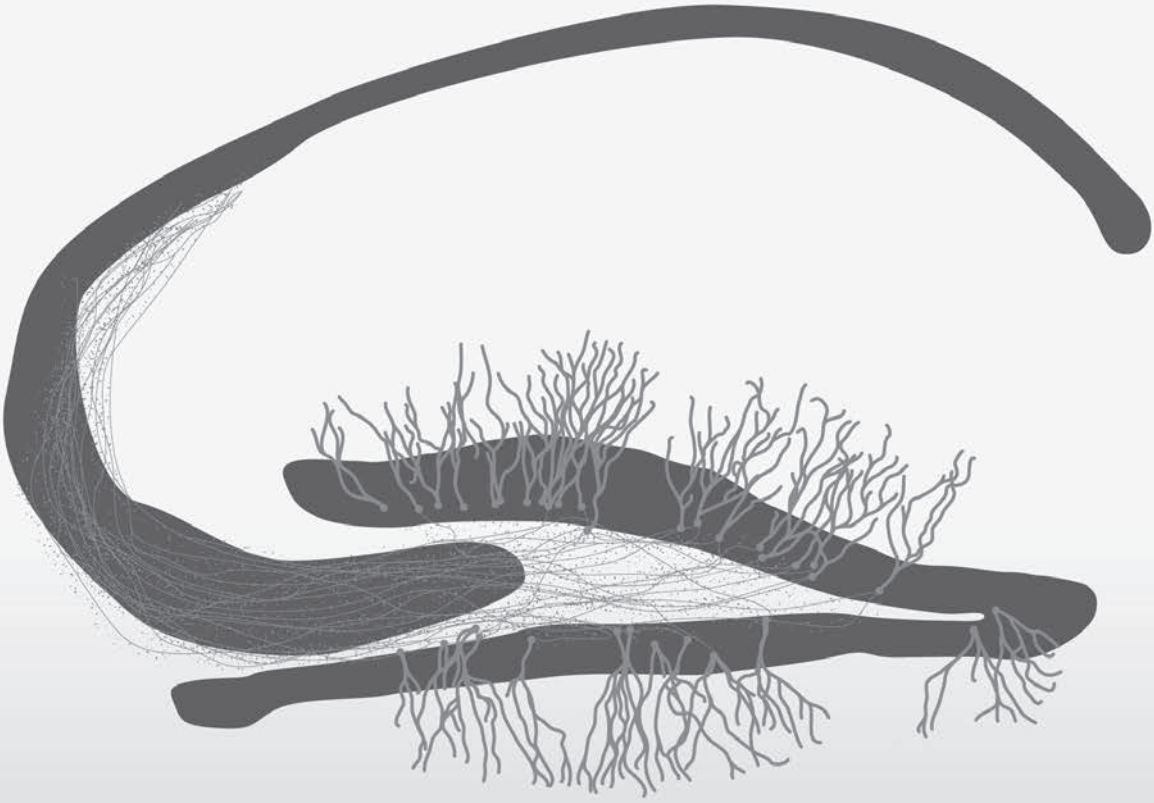
comenzando, fundamentalmente, por la MAP1B, y se examinó su posible implicación en la axonogénesis.[7,8]

Estos trabajos fueron completados con el estudio de la posible función de otra MAP, conocida como proteína tau, en procesos neuropatológicos, describiéndose por primera vez la capacidad de tau para autoensamblarse, dando lugar a polímeros similares a los encontrados en los cerebros de los pacientes (filamentos apareados helicoidales, PHF) que sufren la enfermedad de Alzheimer,[9,10] y describiendo, posteriormente, una modificación novedosa que se produce en esa proteína, la glicación, que podría estar implicada en la agregación de PHF en ovillos neurofibrilares (NFT).[11] Observamos una relación entre fosforilación y agregación de tau, por lo que nuestro grupo desarrolló un modelo de ratón transgénico condicional que sobreexpresa, en condiciones permisivas, la quinasa (GSK3), la proteína que fosforila más residuos en la molécula de tau. Con este modelo, pudimos estudiar algunos aspectos de la patología relacionada con la disfunción de tau, basándonos en el hecho de que dicha disfunción podría estar relacionada con la hiperfosforilación de tau que se da en la enfermedad de Alzheimer.[12]

También, más recientemente, hemos realizado otros trabajos describiendo unas condiciones (relacionadas con el estrés oxidativo[13]) que podrían explicar cómo el tau fosforilado muestra una mayor capacidad para formar los agregados patológicos que se encuentran no solo en la enfermedad de Alzheimer, sino en otro tipo de demencias conocidas como tauopatías. La importancia de la fosforilación de tau ha sido también comentada en otro artículo.[14]

Adicionalmente, se han llevado a cabo no solo estudios sobre la degeneración nerviosa, sino que también se han realizado estudios de regeneración axonal en neuronas del sistema nervioso central, habiéndose observado que el trasplante de células de glía envolvente facilita dicha regeneración en ratas lesionadas.[15,16] Por otra parte, se obtuvieron clones inmortalizados de estas células de glía envolvente que han sido patentados para un uso potencial en el futuro. En 2007, y sobre el tema de regeneración neuronal en médula espinal, fue cuando tuve mi contacto más directo con la Fundación Botín. Tras una entrevista con don Pedro García Barreno, al que ya tenía el honor de conocer, me ofreció, con gran generosidad, incorporarme como *scholar* al proyecto, por él ideado, de la Fundación Botín. Creo que nunca antes vi algo tan bien programado. Era un proyecto sobre «pócimas y chips», como él había previamente escrito en un libro publicado en 2006 por Espasa Calpe. En este grupo de la Fundación Botín están antiguos miembros del CBM, colaboradores míos (véanse las personas que aparecen en la tabla del final). Además, están algunos amigos de dentro y de fuera de Madrid. Un buen grupo.

No fue difícil, tras volver a hablar con él y con Paco Moreno, convencerme de que me estaba sucediendo una de las mejores cosas de mi carrera científica. Siempre agradeceré a don Pedro García Barreno, a Paco Moreno, a don Rafael Benjumea, a Angel Durán, a Lala Aguadé, etcétera, y al director y al presidente de la Fundación Botín, que me trataran como uno más, confiando en mi trabajo.



En la actualidad, nuestro laboratorio está centrado en el estudio de las tauopatías (la más relevante es la enfermedad de Alzheimer), y hemos desarrollado también nuevos modelos de ratones transgénicos que expresan tau humano con algunas mutaciones descritas en una tauopatía, la demencia frontotemporal, o que expresan esta proteína junto a las quinasas que fosforilan a tau en procesos neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer.[17,18] También se está estudiando cómo podría propagarse la patología de tau en la enfermedad de Alzheimer desde el hipocampo a la corteza cerebral.[19] Como se ha comentado anteriormente, nuestro trabajo experimental fue complementado con explicaciones y revisiones más generales sobre aspectos relacionados con neurodegeneración, tau o la enfermedad de Alzheimer,[13,20-22] o colaborando, mediante suministro de materiales, con consorcios externos.[23]

Una de las características más conocidas de la enfermedad de Alzheimer es la pérdida de memoria de los pacientes. Esta pérdida de memoria se ha relacionado con posibles defectos en la neurogénesis adulta que se producen en el giro dentado. Por ello, más recientemente, estamos estudiando la neurogénesis, en el giro dentado, en un modelo de ratón (para la enfermedad de Alzheimer), y hemos observado que en dicho ratón hay defectos que se asemejan a los encontrados en la enfermedad de Alzheimer.[24,25] Estos defectos pueden revertirse en ratones jóvenes, pero no en ratones viejos.

Actualmente, seguimos intentando conocer cuáles son los mecanismos, en el ámbito molecular, que pueden explicar la pérdida de memoria que se observa en pacientes de Alzheimer. Por otra parte, se ha iniciado, junto con el doctor Eduardo Soriano, un estudio para buscar posibles mutaciones somáticas que puedan producirse en zonas del cerebro que son dañadas en los primeros estadios de la enfermedad de Alzheimer. Parece obvio que para buscar cambios genéticos, somáticos, en una enfermedad neurodegenerativa, se debe de secuenciar el ADN en células del cerebro y no el ADN de células de sangre, como se viene realizando.

Para el futuro más cercano, estamos planeando realizar reprogramación in vivo para ver si conseguimos transformar células de glía en neuronas, utilizando modelos de neurodegeneración en ratón. No sé lo que me dará tiempo a realizar antes de la jubilación final, pero estoy seguro de que lo que no pueda hacer yo lo harán —mejor, aunque les costará— los que vienen detrás empujando. De momento seguiré trabajando sobre esa enfermedad silenciosa y devastadora a la que Kraepelin denominó enfermedad de Alzheimer (uno de sus discípulos).

Finalmente, siguiendo con la tradición judeocristiana, me despediré siguiendo la pauta de don Pedro García Barreno: *Shalom yom tov*. Una traducción literal de «Paz y bien» que posiblemente sea incorrecta. Es una pena que, aunque tuve en el bachillerato buenos profesores de letras, no fuera un alumno aplicado.

Lista de las personas que han pasado por el laboratorio

V. González Corcés, E. Jiménez, Y. Fermín, A. Villasante, M. D. Ledesma, M. Bagnat (Argentina), M. Martínez Valdivia, A. Gómez Ramos, P. Tompa (Hungría), R. Manso, A. Ramón Cueto, J. García Pérez (Cuba), J. C. Díez Ballesteros, J. J. Lucas, C. Colaço (Reino Unido), J. de la Torre, J. Muñoz Montano, D. Cross (Chile), L. Serrano, F. Hernández, G. Mansfield (Reino Unido), M. A. Hernández, F. Lim (Australia), T. Engel (Alemania), F. Wandosell, M. T. Moreno Flores, T. Koechling (Alemania), J. Díaz-Nido, C. L. Sayas, N. de la Torre, C. Osuna, J. Hoenicka (Venezuela), A. Rubio, E. Montejo, F. Moreno Herrero, I. Santa María, J. Domínguez, M. L. del Toro, E. Tortosa, M. García-Rocha, A. Sánchez, C. Montenegro (Chile), M. Medina, R. Padilla, E. Gómez de Barreda, I. Coreas, R. Cuadros, P. Goñi, J. García-Ancos, E. Langa, Z. Velásquez (Chile), A. Heargraves (Reino Unido), S. Soto Largo, E. García García (Chile), R. Armas, C. Plata, D. Simón, M. Pérez, M. Engelke (Alemania), A. Fuster, A. Nieto, E. Demand (Alemania), P. Martín Maestro, M. Arrasate, G. Wiche (Austria), J. Jurado, C. González-Billault (Chile), R. Maccioni (Chile), M. Llorens, M. Sánchez, A. Cáceres (Argentina), N. Pallas, C. Sánchez, J. C. Zabala, V. García Escudero, L. Ulloa, O. Massa (Italia), J. Merchán, J. Díez-Guerra, F. Moreno, N. Hed (Holanda), L. Kremer, R. Owen (EE. UU.), N. el Kadmiri (Marruecos), A. Alcover, C. Pazzagli (Italia) y E. Bustos

Bibliografía representativa del trabajo del doctor Ávila

1. G. Wiche, V. G. Corces y J. Ávila, «Preferential binding of hog brain microtubule-associated proteins to mouse satellite versus bulk DNA preparations», en *Nature*, vol. 273, 1978, pp. 403-405.

2. L. Serrano, J. de la Torre, R. B. Maccioni y J. Ávila, «Involvement of the carboxyl-terminal domain of tubulin in the regulation of its assembly», en *PNAS*, vol. 81, 1984, pp. 5989-5993.

3. A. J. Hargreaves, F. Wandosell y J. Ávila, «Phosphorylation of tubulin enhances its interaction with membranes», en *Nature*, vol. 323, 1986, pp. 827-828.

4. L. Serrano, A. Valencia, R. Caballero, y J. Ávila, «Localization of the high affinity calcium-binding site on tubulin molecule», en *J Biol Chem*, vol. 261, 1986, pp. 7076-7081.

5. A. Fontalba, J. Ávila y J. C. Zabala, «Beta-tubulin folding is modulated by the isotype-specific carboxy-terminal domain», en *J Mol Biol*, vol. 246, 1995, pp. 628-636.

6. P. Ripoll, S. Pimpinelli, M. M. Valdivia y J. Ávila, «A cell division mutant of Drosophila with a functionally abnormal spindle», en *Cell*, vol. 41, 1985, pp. 907-912.

7. L. Ulloa, J. Díaz-Nido y J. Ávila, «Depletion of casein kinase II by antisense oligonucleotide prevents neuritogenesis in neuroblastoma cells», en *Embo J*, vol. 12, 1993, pp. 1633-1640.

8. J. Díaz-Nido, L. Serrano, E. Méndez y J. Ávila, «A casein kinase II-related activity is involved in phosphorylation of microtubule-associated protein MAP-1B during neuroblastoma cell differentiation», en *J Cell Biol*, vol. 106, 1988, pp. 2057-2065.

9. E. Montejo de Garcini, J. L. Carrascosa, I. Correas, A. Nieto y J. Ávila, «Tau factor polymers are similar to paired helical filaments of Alzheimer's disease», en *FEBS Lett*, vol. 236, 1988, pp. 150-154.

10. M. Pérez, J. M. Valpuesta, M. Medina, E. Montejo de Garcini y J. Ávila, «Polymerization of tau into filaments in the presence of heparin: the minimal sequence required for tau-tau interaction», en *J Neurochem*, vol. 67, 1996, pp. 1183-1190.

11. M. D. Ledesma, P. Bonay, C. Colaco y J. Ávila, «Analysis of microtubule-associated protein tau glycation in paired helical filaments», en *J Biol Chem*, vol. 269, 1994, pp. 21614-21619.

12. J. J. Lucas, F. Hernández, P. Gómez-Ramos, M. A. Morán, R. Hen y J. Ávila, «Decreased nuclear beta-catenin, tau hyperphosphorylation and neurodegeneration in GSK-3beta conditional transgenic mice», en *EMBO J*, vol. 20, 2001, pp. 27-39.

13. G. Perry, J. Ávila, M. G. Espey, D. A. Wink, C. S. Atwood y M. A. Smith, «Biochemistry of neurodegeneration», en *Science*, vol. 291, 2001, pp. 595-597.

14. J. Ávila y J. Díaz-Nido, «Tangling with hypothermia», en *Nat Med*, vol. 10, 2004, pp. 460-461.

15. A. Ramón-Cueto, M. I. Cordero, F. F. Santos-Benito y J. Ávila, «Functional recovery of paraplegic rats and motor axon regeneration in their spinal cords by olfactory ensheathing glia», en *Neuron*, vol. 25, 2000, 425-435.

16. E. Pastrana, M. T. Moreno-Flores, E. N. Gurzov, J. Ávila, F. Wandosell y J. Díaz-Nido, «Genes associated with adult axon regeneration promoted by olfactory ensheathing cells: a new role for matrix metalloproteinase 2», en *J Neurosci*, vol. 26, pp. 5347-5359.

17. T. Engel, F. Hernández, J. Ávila y J. J. Lucas, «Full reversal of Alzheimer's disease-like phenotype in a mouse model with conditional overexpression of glycogen synthase kinase-3», en *J Neurosci*, vol. 26, 2006, pp. 5083-5090.

18. R. Gómez-Sintes, F. Hernández, A. Bortolozzi, F. Artigas, J. Ávila, P. Zaratin, J. P. Gotteland y J. J. Lucas, «Neuronal apoptosis and reversible motor deficit in dominant-negative GSK-3 conditional transgenic mice», en *Embo J*, vol. 26, 2007, pp. 2743-2754.

19. A. Gómez-Ramos, M. Díaz-Hernández, A. Rubio, M. T. Miras-Portugal y J. Ávila, «Extracellular tau promotes intracellular calcium increase through M1 and M3 muscarinic receptors in neuronal cells», en *Mol Cell Neurosci*, vol. 37, 2008, pp. 673-681.

20. J. Ávila, J. J. Lucas, M. Pérez y F. Hernández, «Role of tau protein in both physiological and pathological conditions», en *Physiol Rev*, vol. 84, 2004, pp. 361-384.

21. J. Ávila, «Neurodegeneration: searching for common mechanisms», en *Nat Med*, vol. 16, 2010, p. 4.

22. J. Ávila, «Alzheimer disease: caspases first», en *Nat Rev Neurol*, vol. 6, 2010, pp. 587-588.

23. G. U. Hoglinger, N. M. Melhem, D. W. Dickson, P. M. Sleiman, L. S. Wang, L. Klei, R. Rademakers, R. De Silva, I. Litvan, D. E. Riley, J. C. van Swieten, P. Heutink, Z. K. Wszołek, R. J. Uitti, J. Vandrovcova, H. I. Hurtig, R. G. Gross, W. Maetzler, S. Goldwurm, E. Tolosa, B. Borroni, P. Pastor, L. B. Cantwell, M. R. Han, A. Dillman, M. P. van der Brug, J. R. Gibbs, M. R. Cookson, D. G. Hernández, A. B. Singleton, M. J. Farrer, C. E. Yu, L. I. Golbe, T. Revesz, J. Hardy, A. J. Lees, B. Devlin, H. Hakonarson, U. Müller y G. D. Schellenberg, «Identification of common variants influencing risk of the tauopathy progressive supranuclear palsy», en *Nat Genet*, vol. 43, 2011, pp. 699-705.

24. A. Fuster-Matanzo, M. Llorens-Martín, M. S. Sirerol-Piquer, J. M. García-Verdugo, J. Ávila y F. Hernández, «Dual effects of increased glycogen synthase kinase-3beta activity on adult neurogenesis», en *Hum Mol Genet*, vol. 22, 2013, pp. 1300-1315.

25. M. Llorens-Martín, A. Fuster-Matanzo, C. M. Teixeira, J. Jurado-Arjona, F. Ulloa, J. DeFelipe, A. Rábano, F. Hernández, E. Soriano y J. Ávila, «GSK-3beta overexpression causes reversible alterations on postsynaptic densities and dendritic morphology of hippocampal granule neurons in vivo», en *Mol Psychiatry*, vol. 18, 2013, pp. 451-460.

Otros artículos del autor

M. Fernández-Nogales, J. R. Cabrera, M. Santos-Galindo, J. J. Hoozemans, I. Ferrer, A. J. Rozemuller, F. Hernández, J. Ávila y J. J. Lucas, «Huntington's disease is a four-repeat tauopathy with tau nuclear rods», en *Nat Med*, 2014, en prensa.

E. Tortosa, N. Galjart, J. Ávila y C. L. Sayas, «MAP1B regulates microtubule dynamics by sequestering EB1/3 in the cytosol of developing neuronal cells», en *EMBO J*, vol. 32, 2013, pp. 1293-1306.

P. Merino-Serrais, R. Benavides-Piccione, L. Blázquez-Llorca, A. Kastanauskaite, A. Rábano, J. Ávila y J. DeFelipe, «The influence of phospho-tau on dendritic spines of cortical pyramidal neurons in patients with Alzheimer's disease», en *Brain*, vol. 136, 2013, pp. 1913-1928.

M. Benoist, R. Palenzuela, C. Rozas, P. Rojas, E. Tortosa, B. Morales, C. González-Billault, J. Ávila y J. A. Esteban, «MAP1B-dependent Rac activation is required for AMPA receptor endocytosis during long-term depression», en *EMBO J*, vol. 32, 2013, pp. 2287-2299.

E. Tortosa, C. Montenegro-Venegas, M. Benoist, S. Hartel, C. González-Billault, J. A. Esteban y J. Ávila, «Microtubule-associated protein 1B (MAP1B) is required for dendritic spine development and synaptic maturation», en *J Biol Chem*, vol. 286, 2011, p. 40638.

M. Sirerol-Piquer, P. Gómez-Ramos, F. Hernández, M. Pérez, M. A. Morán, A. Fuster-Matanzo, J. J. Lucas, J. Ávila y J. M. García-Verdugo, «GSK3beta overexpression induces neuronal death and a depletion of the neurogenic niches in the dentate gyrus», en *Hippocampus*, vol. 21, 2011, pp. 910-922.

M. Díaz-Hernández, A. Gómez-Ramos, A. Rubio, R. Gómez-Villafuertes, J. R. Naranjo, M. T. Miras-Portugal y J. Ávila, «Tissue-nonspecific alkaline phosphatase promotes the neurotoxicity effect of extracellular tau», en *J Biol Chem*, vol. 285, 2010, pp. 32539-32548.

P. Goñi-Oliver, J. J. Lucas, J. Ávila y F. Hernández, «N-terminal cleavage of GSK-3 by calpain: a new form of GSK-3 regulation», en *J Biol Chem*, vol. 282, 2007, pp. 22406-22413.

F. Hernández, M. Pérez, J. J. Lucas, A. M. Mata, R. Bhat y J. Ávila, «Glycogen synthase kinase-3 plays a crucial role in tau exon 10 splicing and intranuclear distribution of SC35. Implications for Alzheimer's disease», en *J Biol Chem*, vol. 279, 2004, pp. 3801-3806.

M. Díaz-Hernández, F. Moreno-Herrero, P. Gómez-Ramos, M. A. Morán, I. Ferrer, A. M. Baro, J. Ávila, F. Hernández y J. J. Lucas, «Biochemical, ultrastructural, and reversibility studies on huntingtin filaments isolated from mouse and human brain», en *J Neurosci*, vol. 24, 2004, pp. 9361-9371.

J. A. del Río, C. González-Billault, J. M. Urena, E. M. Jiménez, M. J. Barallobre, M. Pascual, L. Pujadas, S. Simó, A. La Torre, F. Wandosell *et ál.*, «MAP1B is required for Netrin 1 signaling in neuronal migration and axonal guidance», en *Curr Biol*, vol. 14, 2004, pp. 840-850.

R. Bhat, Y. Xue, S. Berg, S. Hellberg, M. Ormo, Y. Nilsson, A. C. Radesater, E. Jerning, P. O. Markgren, T. Borgegard *et ál.*, «Structural insights and biological effects of glycogen synthase kinase 3-specific inhibitor AR-A014418», en *J Biol Chem*, vol. 278, 2003, pp. 45937-45945.

JOAN GUINOVART

EMULACIÓN DE HABACUC

7

Nací en Tarragona en 1947. Mi padre murió cuando yo tenía dos años. Fui hijo único. Mi madre Josefa (Pepi) Cirera me educó con gran cariño, pero con determinación férrea para que lograra, según sus propias palabras, «ser un hombre útil a la sociedad». Me crie en un cine, el Central Cinema, que era de la familia. Hacía los deberes en la taquilla con mi madre. Solo cuando los acababa me dejaba entrar en la sala, así que únicamente veía el final de las películas. Creo que la primera expresión inglesa cuyo significado comprendí fue «*The End*».

Me llevaron al Colegio La Salle del Sagrado Corazón, el único colegio religioso masculino que había en Tarragona y la alternativa al considerado excesivamente liberal Instituto de Enseñanza Media. Era un buen alumno, excepto en gimnasia. Recuerdo casi todas las canciones patrióticas e himnos religiosos que se estilaban por esa época. Aún puedo cantar —desafinando— el himno dedicado al fundador. Mi lugar de esparcimiento era el Foro Romano de la colonia, ubicado muy cerca de mi casa, en aquellos años completamente abandonado. Allí jugábamos al fútbol entre restos arqueológicos. Eso imprime carácter.

En lugar de querer ser ingeniero —que es lo que se esperaba en aquellos años de los chicos que eran buenos en matemáticas—, la influencia de mi profesor de Química en el bachillerato, don Serafín Sánchez, hizo que me entusiasmara por dicha materia. Empecé con el juego Cheminova, monté un laboratorio de química en mi casa y acabé en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Barcelona. Mi madre, influida por el ejemplo de su tío farmacéutico, me orientaba hacia la farmacia. Al final pactamos que estudiaría las dos carreras. Fue una excelente solución, ya que la química me dio una base rigurosa y la farmacia un toque biológico que luego me ha ayudado sobremanera.

Encontré la universidad enormemente aburrida. Las clases eran, en general, poco estimulantes y solo los laboratorios añadían un poco de interés. Eran los años de la lucha por la democracia del Sindicat Democràtic d'Estudiants de la Universitat de Barcelona (SDEUB), que culminaron con la histórica «Caputxinada». No conseguimos completar ni un solo programa en su totalidad debido a los frecuentes altercados políticos que, en más de una ocasión, llevaron a cerrar la universidad. Un año incluso nos amenazaron con hacernos perder el curso a todos los estudiantes.

La combinación de química y farmacia me inclinó de forma natural por la bioquímica. Mis profesores de dicha materia fueron Vicente Villar Palasí y Manuel (Manolo) Rosell Pérez en Farmacia y Fernando Calvet en Química. Desde la primera clase me quedé cautivado por la magia de Manolo, que hacía poco había regresado de Estados Unidos, y se le notaba. Él fue

el único profesor que nos recomendó leer textos en inglés, y así descubrí el *Scientific American*. Al acabar la licenciatura en 1969 me incorporé a su grupo. Al mismo tiempo, Vicente Villar se fue de rector-fundador a la Universidad Autónoma de Barcelona. Ninguno de los dos vivió muchos más años, Vicente murió en 1974 y Manolo en 1977.

Hice la tesis con Manolo sobre la glucógeno sintasa de rana. Obtuve una plaza de profesor ayudante y una beca de 10.000 pesetas mensuales. Eso me permitió casarme con Rosa y pagar la hipoteca de un pequeño piso cerca de la facultad. Mi primera actividad como doctorando fue viajar un fin de semana al delta del Ebro para encontrar un proveedor para los animales. En aquella época se creía que las ranas eran una excepción a la existencia de dos formas de la glucógeno sintasa. Mis resultados las devolvieron a la normalidad. El laboratorio de la Facultad de Farmacia era muy elemental. Para la medida de la actividad usábamos ^{14}C-glucosa y el único contador de radioactividad estaba en el edificio histórico. Así que cogía el tranvía con los viales para ir a realizar su recuento. Como profesor ayudante me harté de impartir clases y prácticas. Al final de mi doctorado había explicado prácticamente todas las lecciones del programa. Ese entrenamiento docente intensivo resultó crítico en las oposiciones. Junto con Abel Mariné fui uno de los dos primeros PNN (profesores no numerarios) admitidos en la Junta de Facultad.

Hice el posdoctorado con Joseph Larner en la Universidad de Virgina (1974-75) con la ayuda de una de las llamadas «becas de las bases», administradas por la Comisión Fulbright, resultantes del «Convenio de colaboración cultural entre España y los Estados Unidos de América». A cambio del establecimiento de las bases militares se concedieron unos flecos para ciencia que resultaron críticos, puesto que eran de las pocas ayudas que había para ir a trabajar al extranjero. En Charlottesville conocí a Carlos Villar Palasí, hermano de Vicente, que toda la vida se mantuvo junto a Larner y con quien entablé una gran amistad. Trabajé sobre el mecanismo de acción de la insulina, buscando el inexistente mensajero de la hormona. Joe se había formado con los Cori y había sido testigo de los grandes descubrimientos que generó esa escuela, como la regulación por fosforilación y el AMP cíclico. Joe estaba convencido de que, puesto que la insulina antagoniza la acción de la adrenalina, la primera debía generar un metabolito que contrarrestara los efectos del AMP cíclico. Fue una lástima que tan lógica hipótesis no se viera corroborada pues, como ahora sabemos, la insulina desencadena una cascada de fosforilaciones tras unirse a su receptor de membrana. Joe me educó en el valor del trabajo duro y de la fe en uno mismo. Ha fallecido recientemente, a los noventa y tres años, y trabajó hasta pocas semanas antes de su muerte. Me alegra haber podido participar en el homenaje que se le rindió en el 2011 al cumplir los noventa años.

La llegada a Estados Unidos fue un choque cultural y científico. El Departamento de Farmacología de la UVA, a pesar de su modesto tamaño, tenía una gran vitalidad. Joe, que era su director, había incorporado a este a una serie de jóvenes brillantes, dos de los cuales, Al Gilman y Ferid Murad, acabaron obteniendo el premio Nobel. El ambiente en el laboratorio era muy estimulante y frecuentemente las luces no se apagaban por la noche porque siempre había alguien trabajando. Aprendí mucho de mis compañeros, en particular de John Lawrence, que falleció relativamente joven en 2006, y de Peter Roach, quien me sigue uniendo una buena amistad.

En diciembre de 1974, aprovechando que volvía a casa por Navidad, me presenté a unas oposiciones para tres plazas de profesor adjunto de facultades de Farmacia, que había firmado a principios de 1973 y que se habían retrasado extraordinariamente. En teoría era solo «para foguearme», pues no eran para mí. El presidente del tribunal era don Ángel Santos. Contra pronóstico las saqué —junto con José M. Culebras y Eduard Salsas—, en gran medida gracias a la práctica docente que había adquirido con las numerosas clases que di durante mi etapa predoctoral. Tenía veintisiete años y la vida solucionada. Por ello tuve que finalizar mi posdoctorado y volver a Barcelona para «tomar posesión de la plaza y jurar fidelidad a los principios del Movimiento» a finales de 1975. Poco antes había muerto Franco y nacido mi hija Caterina. En ese momento le diagnosticaron a Manolo un linfoma; fue a tratarse al Johns Hopkins pero murió en enero de 1977. Así que me puse al frente de la línea de investigación sobre glucógeno, iniciada por él. Joan Massagué fue mi primer doctorando. El laboratorio de Bioquímica no había cambiado mucho en los años en los que había estado ausente, ¡excepto que ahora teníamos un contador de centelleo en la facultad! La muerte de Manolo habría podido hundirnos, pero los huérfanos, Fausto García Hegardt —que por ser profesor agregado era el jefe—, Juan Aguilar, Eduard Salsas y yo, cerramos filas y nos organizamos para sobrevivir. Una de las fórmulas imaginativas que utilizamos para conseguir dinero para investigar fue la realización de cursillos de análisis clínicos. Los alumnos eran normalmente farmacéuticos con botica que deseaban ampliar sus horizontes haciendo análisis. Con el dinero de las matrículas podíamos añadir un suplemento a la escasa ayuda del FIU, que era la principal fuente de financiación de la investigación en las universidades. Afortunadamente, conseguí ayudas de la Fundación Pedro Pons, de la Fundación María Francisca de Roviralta y del Institut d'Estudis Catalans, que me permitieron arrancar con cierta fuerza.

A pesar de la escasez de medios, el ambiente en aquel sótano de la Facultad de Farmacia era fantástico. Éramos el único departamento donde todos los profesores habían hecho un posdoctorado en el extranjero y eso se notaba en la manera de dar las clases (abusando de los anglicismos), en la de tratar a los alumnos (de tú) e incluso en la forma de vestir (sin corbata). Sin duda fuimos exponente del cambio hacia la modernidad que en aquel momento experimentaba todo el país y así dimos el primer curso en catalán. Al ser el departamento más atractivo, sistemáticamente conseguíamos reclutar a los mejores estudiantes y acaparar las becas de posgrado. También fuimos de los primeros en obtener financiación de la «asesora» (CAICYT) con gran escándalo de los viejos catedráticos, que no podían entender que esos jóvenes consiguieran fondos que no pasaban por el control de la Junta de Facultad. Ahí se formó una generación de científicos que han tenido un gran impacto en la bioquímica nacional y mundial. El motivo es que, a pesar de la penuria, teníamos muy claros los valores y nos esforzábamos en aplicar los estándares internacionales que habíamos aprendido durante nuestras estancias posdoctorales. Sabíamos lo que había que hacer y cómo hacerlo, pero nos faltaban los medios. Así puse en marcha proyectos sobre la regulación de la glucógeno sintasa por fosforilación tanto in vivo como in vitro.

En 1983 me trasladé a la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB), en comisión de servicios, para poner en funcionamiento la enseñanza de la Bioquímica en la nueva Facultad de Veterinaria. Conmigo se vinieron los farmacéuticos Carlos Ciudad, Fátima Bosch y más

tarde Joaquín Ariño. Juntos levantamos un pequeño laboratorio, aunque decentemente dotado, e impartimos la docencia a los futuros veterinarios. La innovación fue introducir un curso de Bioquímica Clínica que fue pionero y montar el servicio de laboratorio de análisis para el hospital veterinario. En esa época dedicamos muchos esfuerzos al estudio del efecto de diferentes azúcares sobre el metabolismo del glucógeno y de los agentes insulinomiméticos como el litio y el vanadato. Joan Enric Rodríguez descubrió durante su tesis los efectos del wolframato, un tema en el que he trabajado durante más de veinte años, en gran medida colaborando con Ramon Gomis de Barbarà, hijo ilustre de Reus y el último renacentista, ya que combina a la perfección la práctica de la medicina con la investigación en diabetes y el cultivo de las letras.

Tras varios intentos fallidos de obtener una plaza de profesor agregado, en 1985 saqué una cátedra en la UAB y a finales de 1989 hice nuevas oposiciones para regresar a la UB, esta vez al departamento adscrito a las facultades de Química y Biología, donde fui muy bien recibido. Allí levanté de nuevo un laboratorio con la ayuda de Anna María Gómez-Foix. Durante esos años, Roberto Fernández de Caleya me llamó a la ANEP para coordinar el área de Bioquímica y Biología Molecular. Eso fue un curso acelerado de política científica donde aprendí que el único camino de la ciencia es el de la excelencia. Ahí coincidí con otros «capitanes» que luego han desempeñado un papel clave en la ciencia española: Ernest Giralt, José López Barneo, Bernat Sòria. Mi sucesor fue Jesús Ávila. Una de mis actividades fue organizar una sesión de prospectiva que consistía en un *brain-storming* sobre el futuro de la Bioquímica y la Biología Molecular que se celebró en Málaga. En ella participaron Lennart Philipson, director del EMBL, Bernardo Nadal-Ginard, entonces en el pico de su gloria, y otras figuras europeas y americanas, entre ellos Joan Massagué, cuya estrella ya brillaba con fuerza, y Ángel Pellicer, mi amigo de juventud y el mejor científico que ha dado Tarragona. Una de las conclusiones fue que había que romper las fronteras entre disciplinas y adoptar una aproximación transversal. Así nació el concepto de un nuevo tipo de centro de investigación al que Roberto bautizó como el «Bioleches» y que, tras mucho trastabillar, finalmente cristalizó en el IRB Barcelona.

En 1992, año olímpico, toda la familia se trasladó a San Francisco y realicé un sabático en la UCSF con Robert Fletterick, el cristalógrafo que había publicado la estructura de la glucógeno fosforilasa y que había clonado la glucógeno sintasa humana. Mi proyecto era resolver la estructura de esta última. Este objetivo era sin duda excesivamente optimista, puesto que se había resistido durante veintidós años. Mi proyecto alternativo consistió en estudiar el efecto de una seria de mutaciones puntuales sobre las propiedades alostéricas de la fosforilasa. En 2005, en colaboración con Ignacio Fita (IBMB-CSIC) y Joan C. Ferrer (UB), resolvimos la estructura de la glucógeno sintasa de *Pyrococcus abyssi*, lo que me quitó la espinita que me había dejado mi sabático.

A la vuelta de San Francisco me encargaron la organización del congreso de la Federación Europea de Sociedades de Bioquímica (FEBS) que debía celebrarse en Barcelona en 1996. Tuvo un éxito considerable, y por ello me eligieron para el cargo de consejero de congresos y miembro del comité ejecutivo de la FEBS, que ejercí durante nueve años. Ese mismo año empezó mi mandato como presidente de la SEBBM. Con la ayuda de la junta directiva le dimos un buen

empujón a la sociedad para que llegara a ser la más poderosa e influyente de las sociedades científicas españolas. También creamos puentes con las sociedades latinoamericanas, particularmente con las de Argentina y Chile, que siguen siendo sólidos, y establecimos lazos con las de Francia e Italia (simposios conjuntos en Marsella y Alghero). Eso fue posible gracias a un comité del que formaban parte Athel Cornish-Bowden y Marilú Cárdenas.

Desde 1995 hasta 2001 fui director del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la UB. Nos otorgaron el Premi Ciutat de Barcelona d'Investigació Científica, gesta no lograda por ningún otro departamento universitario. Durante este periodo dediqué muchos esfuerzos al estudio de los efectos del wolframato. En 1995 patentamos su uso como agente antidiabético. Esa fue la primera patente de la UB en ser transferida a una empresa. Química Farmacéutica Bayer llevó el compuesto hasta fase 2, para el tratamiento de la obesidad. Desgraciadamente, la falta de recursos no permitió repetir los ensayos clínicos con mayores dosis y con tiempos más largos. Las acciones del wolframato siguen fascinándome, ya que tiene una enorme capacidad para normalizar muchas de las alteraciones observadas en un amplio abanico de trastornos.

En 2001 empecé el largo vía crucis de erigir con Joan Massagué un centro de investigación con estándares internacionales en el Parque Científico de Barcelona. Costó «sangre, sudor y lágrimas», y tras ser víctima del «fuego amigo», en octubre de 2005 se creó la fundación Institut de Recerca Biomèdica (IRB Barcelona) como entidad con personalidad jurídica propia y empezó el despegue imparable que nos llevó a conseguir la distinción de excelencia Severo Ochoa en la primera convocatoria (2011) y la placa Narcís Monturiol de la Generalitat un año después. Hoy, el IRB Barcelona es reconocido como uno de los grandes centros europeos. Gracias a sus magníficas instalaciones y a la ayuda que recibí de la Fundación Botín he podido abordar temas que antes no podía ni imaginar. Mediante el uso de animales transgénicos he logrado demostrar que hay un glucógeno bueno, pero también uno malo. Mar García-Rocha, Jorge Domínguez y Jordi Duran han sido los pilares de mi laboratorio durante estos años. Gracias a Marco Milán (IRB Barcelona) he descubierto las grandes posibilidades de la mosca del vinagre como animal de experimentación en el que modelar las enfermedades humanas. También por influencia de los colegas del programa de oncología, en particular de Roger Gomis (IRB Barcelona), me he adentrado en el estudio del metabolismo del cáncer.

En marzo de 2004 fui elegido primer presidente de la recién creada Confederación de Sociedades Científicas de España (COSCE). Mi primera acción fue generar el informe CRECE, propuestas del conjunto de la comunidad científica española para reformar el sistema de I+D. El documento se entregó a la vicepresidenta del Gobierno en el Palacio de la Moncloa. También puse en marcha el proyecto CONOCEROS para el conocimiento mutuo de políticos y científicos y el proyecto ENCIENDES para potenciar la enseñanza de las ciencias en centros de educación secundaria. Al dejar la presidencia en 2011, la COSCE se había convertido en el interlocutor reconocido de la comunidad científica. Entre 2010 y 2013 ejercí de tesorero de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB), de la que fui escogido presidente electo en 2012. Consecuentemente ejerceré el cargo de presidente a partir de 2016.

Me siento particularmente satisfecho de haber impulsado la renovación del antiguo *Boletín SEBBM* hasta convertirlo en una revista de prestigio y un referente en temas de ciencia y sociedad. También estoy muy orgulloso mis actividades para promover las vocaciones científicas entre los más jóvenes. Con Josep Maria Fernández-Novell monté en 1997 los cursos «I tu?, jo bioquímica» para estudiantes de bachillerato, que se han celebrado de forma ininterrumpida desde entonces en la UB, y los cursillos para profesores de secundaria. Lamentablemente, los intentos de exportar el modelo a otras universidades no han sobrevivido a las primeras ediciones. También publicamos un manual para trabajos de investigación en secundaria que fue pionero en su categoría. Recientemente he impulsado el programa Crazy About Biomedicine, que permite a los estudiantes de bachillerato pasar los sábados en el IRB Barcelona trabajando bajo la supervisión de nuestros doctorandos. El concepto se ha extendido a otros ámbitos y confío que en el futuro se ofrezca este tipo de cursos en la mayoría de las materias.

He recibido algunos honores que probablemente no merezco, entre ellos la Medalla Narcís Monturiol, la Creu de Sant Jordi de la Generalitat de Catalunya y el Diploma de Honor de la FEBS. Mi doble pertenencia a la Real Academia Nacional de Farmacia (Instituto de España) y al Institut d'Estudis Catalans me convierte en una rara avis. Pero, por encima de todo, me considero un privilegiado por haber tenido la oportunidad de trabajar con estudiantes y posdoctorales excelentes, sin los que no habría llegado muy lejos. Jóvenes inteligentes, brillantes, atrevidos; creo que mi único pequeño mérito ha sido darles las oportunidades para que pudieran desarrollar su talento. Es para mí un honor poder ser considerado el tutor de científicos tan brillantes. Ellos me recompensan, de esa manera, con parte de su fama.

Mis aficiones son la navegación por el cabo de Creus con mi lancha *Es Sipió* e ir de excursión por el valle del Torán con Ramon Gomis, el mejor de los guías de «era Val d'Aran». Me fascina el sur de Chile, «el mundo del fin del mundo», que he conocido gracias a mis buenos amigos Ilona Concha, Juan Carlos Slebe y Alejandro Yáñez, en Valdivia; y Rafael Vicuña, Vicky Guixé, Jorge Babul, M. Inés Vera, Manuel Krauskopf y tantos otros en Santiago. En ellos he encontrado verdaderos «espíritus fraternos y luminosas almas». Pero sobre todo me encanta pasear por la Part Alta de la ciudad de Tarragona, que me declaró su hijo predilecto y donde tengo mi casa. Me fascina contemplar a los apóstoles del pórtico de la catedral. Dice la tradición que cada siglo cae uno y que cuando no quede ninguno será el fin del mundo. También aparece Habacuc, por quien siento mucha simpatía; el segundo por la izquierda en el lado del Evangelio. Se lo reconoce por su filacteria con la inscripción «*Domine audivi*». Es el único profeta menor que ha conseguido su estatua entre un elenco muy distinguido formado por los evangelistas, profetas mayores y otros personajes bíblicos de mucho rango, como Moisés, el rey David y Juan el Bautista. ¡Tiene mucho mérito! Creo que mi posición entre los beneficiarios de la Fundación Botín es similar a la de Habacuc en el pórtico de la catedral de Tarragona.

El estudio del metabolismo del glucógeno

La mayor parte de mi investigación ha estado dedicada al estudio del metabolismo del glucógeno. Esta ha sido un área en la que se han producido hallazgos que luego han demostrado ser generalizables al resto de la biología. Así, el descubrimiento

de la regulación enzimática por fosforilación fue realizado inicialmente estudiando el control de la glucógeno fosforilasa. La segunda proteína descubierta cuya actividad aumentaba por fosforilación fue la fosforilasa quinasa. La tercera fue la glucógeno sintasa, aunque, en este caso, se inactivaba al ser modificada covalentemente. La glucógeno sintasa fue la primera proteína en la que se demostraron múltiples centros de fosforilación, lo que llevó más adelante al concepto de fosforilación jerárquica. Hoy en día se reconoce la fosforilación como el mecanismo reversible más ampliamente utilizado para el control de la actividad de las moléculas biológicas. La glucógeno sintasa quinasa-3 (GSK-3) es un magnífico ejemplo, ya que participa en múltiples y diversos procesos, si bien su nombre claramente delata donde fue identificada por primera vez. El concepto de cascada enzimática también se desarrolló a partir del estudio de la activación de la glucogenólisis. Hoy es parte fundamental de todos los mecanismos de transducción de señales. El concepto de los mensajeros secundarios surgió también del estudio del efecto de las hormonas glucogenolíticas que llevó al descubrimiento del AMP cíclico. Las proteínas G fueron también identificadas en el estudio del efecto de la adrenalina sobre la adenilato ciclasa. ¿Cuál es la razón de que tantos descubrimientos fundamentales y de aplicación general se produjeran, precisamente, en el campo del metabolismo del glucógeno? Probablemente, la explicación es que en ese campo coincidieron una serie de científicos geniales cuya labor fue posteriormente reconocida con el Premio Nobel: Carl y Gerty Cori, Luis F. Leloir, Earl Sutherland, Edwin Krebs, Edmond Fisher o Alfred Gilman. Estoy seguro de que el metabolismo del glucógeno aún nos va a deparar agradables sorpresas y va a ser el terreno en el que se continuarán produciendo importantes descubrimientos.

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

La estructura de la glucógeno sintasa

La resolución de la estructura de la GS ha representado un gran reto. Ante la enorme dificultad de purificar y cristalizar la GS de mamífero, decidimos abordar la estructura cristalográfica de la GS de *Pyrococcus abyssi* porque se trata de la enzima conocida más pequeña de la familia de las glucosiltransferasas que actúan con retención de configuración. La resolución de la estructura nos revela que esta proteína adopta una

estructura cuaternaria en forma de trímero radial plano, mediante la interacción de los dominios N-terminal de cada monómero. La estructura del monómero está formada por dos dominios con plegamiento de tipo Rossmann, común a otras glicosiltransferasas. Es en la intersección entre los dos dominios donde encontramos el dominio catalítico.[1] Gracias a alineamientos de secuencias de proteína de las GS eucariotas y procariotas disponibles en las bases de datos, pudimos establecer que los glutámicos correspondientes a los que ocupan las posiciones 510 y 518 de la GS muscular humana estaban conservados a lo largo de la evolución de las glicosiltransferasas y son residuos importantes para la catálisis.[2] También demostramos que las GS, tanto la de *Pyrococcus abyssi* como la de humanos, tienen un centro de unión a glucógeno que es distinto del centro activo y que desempeña un papel importante en la función de la enzima.[3]

La activación de la GS hepática

Una cuestión fundamental del metabolismo del glucógeno hepático es cómo un incremento de glucosa en sangre dispara la activación de la GS hepática. Evidencias muy tempranas de nuestro laboratorio indicaron que la glucosa debe fosforilarse a glucosa-6-fosfato para poder inducir la activación de la síntesis hepática de glucógeno.[4,5] Seguidamente descubrimos que la producción de glucosa-6-fosfato por la glucoquinasa era un factor necesario para la activación de la GS[6] y que, consecuentemente, la glucoquinasa ejercía un alto control sobre la síntesis del glucógeno hepático.[7] Así pues, la glucosa-6-fosfato debe considerarse a la vez como un percusor y una molécula señalizadora que dirige la incorporación de glucosa al glucógeno. Esa teoría entraba en contradicción con la que proponía el poderoso grupo de la Universidad Católica de Lovaina, y ha costado muchos años lograr que se aceptara. Recientemente, en colaboración con Kei Sakamoto (Nestlé Institute of Health Sciences, Lausana), hemos demostrado que, de hecho, la activación de la GS hepática por glucosa-6-fosfato es el proceso más importante in vivo para desencadenar la deposición de glucógeno.[8]

Localización intracelular de las enzimas

Mi laboratorio también ha descrito que la GS cambia su localización subcelular en respuesta a glucosa, lo que constituye un mecanismo de control adicional. La GS muscular se concentra en el núcleo cuando se degrada el glucógeno citoplasmático y cuando aumenta la concentración de glucosa transloca de nuevo al citosol, donde adopta un patrón particulado al quedarse unida a las partículas de glucógeno que va generando.[9,10] Por el contrario, la GS hepática presenta una distribución difusa en el citosol en ausencia de glucosa y se acumula en la periferia del hepatocito cuando la concentración de hexosa aumenta.[11] La glucosa-6-fosfato es responsable tanto de la activación como de la translocación de la GS. Los cambios en la distribución intracelular de la GS hepática inducidos por glucosa se correlacionan con la estimulación de la síntesis de glucógeno. En hepatocitos aislados de ratas ayunadas, las partículas nacientes de glucógeno se concentran cerca de la membrana plasmática e, inicialmente, el nuevo glucógeno solo se sintetiza en la periferia del hepatocito.[12] Después, estos depósitos de glucógeno crecen desde la periferia hacia el interior de la célula formando una corona que se va engrosando a medida que se alarga

el tiempo de incubación con glucosa. Aun así, al menos mientras hay acumulación neta de glucógeno, la síntesis del polisacárido siempre permanece activa cerca de la membrana plasmática. El glucógeno que se ha sintetizado primero se va desplazando hacia el centro de la célula y las moléculas recién sintetizadas ocupan su sitio. La distribución de la GS sigue el mismo patrón que el glucógeno, sugiriendo que después del movimiento inicial hacia el córtex celular y mientras la síntesis de glucógeno es activa, la GS permanece unida al glucógeno, su sustrato y producto.[13] La degradación del glucógeno también procede ordenadamente. La ordenada deposición y degradación del glucógeno puede representar una ventaja funcional en el metabolismo del polisacárido o simplemente permitir al hepatocito almacenar grandes cantidades de glucógeno.

Estudios sobre el wolframato

A lo largo de nuestras investigaciones se planteó que los compuestos insulinomiméticos podrían contribuir a esclarecer el mecanismo de acción de la insulina sobre la activación de la deposición de glucógeno hepático y a descubrir nuevas dianas terapéuticas para el tratamiento de la diabetes. Una mezcla de proceso racional y de suerte nos llevó a ensayar los efectos del wolframato, primero en células en cultivo y más tarde en animales diabéticos. Este elemento es muy poco abundante en las células, aunque forma parte de algunas enzimas de bacterias anaeróbicas. Sorprendentemente, el wolframato tiene una potente actividad antidiabética. Los efectos antidiabéticos del wolframato de sodio in vivo fueron descritos por mi laboratorio en 1994 en ratas convertidas en diabéticas por inyección de estreptozotocina (STZ).[14] El tratamiento oral con wolframato reducía la glucemia y normalizaba la ingesta de alimentos y agua. También normalizaba los niveles de glucógeno hepático, que se encuentran disminuidos en la diabetes, y también ejercía efectos insulinomiméticos sobre las vías glucolítica y gluconeogénica. Su administración continuada durante ocho meses permitió determinar que no se producía una reducción de su actividad terapéutica. El tratamiento, además de aumentar la supervivencia de los animales diabéticos, prevenía los efectos degenerativos de la diabetes, como la vacuolización del epitelio tubular del córtex renal y la degeneración de la córnea.[15] En ratas sanas, el wolframato no presentaba ningún efecto significativo sobre los parámetros del metabolismo hepático de la glucosa y en ningún caso indujo episodios de hipoglucemia en los animales tratados.

El wolframato no solo es activo en modelos de diabetes tipo 1. El compuesto es también eficaz en modelos de diabetes tipo 2, como las ratas nSTZ.[16] La causa principal de la moderada hiperglucemia de estos animales es una respuesta disminuida de las células β-pancreáticas al estímulo de la glucosa. La administración de wolframato normalizaba la glucemia de estos animales, restablecía la capacidad de las células Ð para responder a glucosa y, además, causaba un aumento en el contenido de insulina y en la masa de las células β.[17] Es decir, el tratamiento con wolframato es capaz de regenerar una población de células β pancreáticas estable y funcional que conduce al mantenimiento de la normoglucemia en estos animales.

Los modelos de diabetes inducidos por estreptozotocina presentan la limitación de que solo mimetizan parcialmente la enfermedad en humanos. En contraste, las ratas ZDF (Zucker-

Diabetic-Fatty) son el modelo animal genético de diabetes tipo 2 cuya fisiopatología es más cercana a la enfermedad en humanos. Estos animales presentan una mutación en el gen *fa* que codifica para el receptor de la leptina, la hormona de la saciedad. En ratas ZDF, el tratamiento con wolframato redujo la elevada hiperglucemia observada en los animales no tratados, además de retardar su aparición en tres semanas. Por otra parte, disminuyó drásticamente los niveles plasmáticos de triglicéridos, contribuyendo a mejorar el estado diabético al reducir la lipotoxicidad.[18] El wolframato es pues también activo en modelos de diabetes genética.

Era necesario profundizar en el estudio de las dianas moleculares del wolframato para comprender mejor su mecanismo de acción y así abrir nuevas puertas al diseño de fármacos antidiabéticos. La hipótesis de trabajo era que el wolframato, directa o indirectamente, afectaba a uno o varios de los componentes de la cascada de señalización de la insulina y que estos efectos constituían la base molecular de las acciones antidiabéticas de este compuesto. En este contexto observamos que el wolframato no alteraba el estado de fosforilación de la subunidad β del receptor de insulina. Además, tampoco bloqueaba o retrasaba su desfosforilación. Por el contrario, se observaba un claro incremento de la fosforilación de las quinasas activadas por mitógenos ERK1/2, consistente con una activación transitoria de estas quinasas. La fosforilación de ERK1/2 es necesaria para que el wolframato ejerza su efecto sobre la acumulación de glucógeno en hepatocitos, como se observó en experimentos con inhibidores de la fosforilación de dicha quinasa.[19] El tratamiento con wolframato no altera la tasa proliferativa de las células tratadas estudiadas. Sin embargo, sí que afecta a las proteínas involucradas en el metabolismo del glucógeno y a la acumulación de este polisacárido. Por lo tanto, los efectos metabólicos de la activación de ERK1/2 en respuesta a wolframato prevalecen sobre los efectos mitogénicos. En cuanto al mecanismo por el cual el wolframato promueve la síntesis de glucógeno, observamos que el tratamiento aumentaba la fosforilación de GSK3β en el residuo de serina consenso 9. Esta modificación inactiva esta quinasa y promueve la activación de la GS, lo que explica la estimulación de la síntesis del polisacárido. Es muy importante señalar que la fosforilación de GSK3β por wolframato es independiente de la activación de PI3K-PDK1-PKB/Akt, la principal vía encargada de la fosforilación de GSK3 en la cascada de señalización de la insulina. Además, tanto la activación de GS en hepatocitos como la fosforilación de GSK3β inducidas por wolframato son dependientes de la fosforilación de ERK1/2 provocada por este compuesto, indicando que existe una conexión entre la fosforilación de ERK1/2, la de GSK3 y el incremento en la síntesis de glucógeno en células tratadas con ese compuesto.[19]

Sin embargo, ERK1/2 no son las dianas primarias del wolframato; por ello, fue necesario analizar las proteínas que se encuentran por encima de ERK1/2 en la cascada de señalización de la insulina para identificar aquellas que se modifican en respuesta al tratamiento con wolframato. Podemos afirmar que el tratamiento con wolframato activa la vía de ERK1/2 a partir de Ras y que la activación de Ras y la fosforilación de ERK1/2 y de GSK3β estimuladas por wolframato son dependientes de proteínas G. La disrupción génica o química de la señalización a través de proteínas G previene la activación de la cascada Ras/ERK y la inducción de la síntesis de glucógeno causada por el wolframato.[20] El punto más novedoso de esta investigación es, probablemente, la descripción de un mecanismo capaz de disminuir la glucemia, sin activación del receptor de insulina, en el que están impli-

cadas algunas proteínas G. Por tanto, estos resultados proveen nuevos datos que apuntan hacia ERK1/2 y proteínas G como dianas potenciales para el diseño de nuevos fármacos antidiabéticos. Es importante señalar que las proteínas G y sus receptores con frecuencia son dianas de compuestos con actividad terapéutica.

En otros estudios realizados en colaboración con el doctor Ramon Gomis del IDIBAPS-Hospital Clínic de la Universidad de Barcelona, observamos que el wolframato tiene también efectos sobre el peso corporal. Este compuesto es capaz de aumentar la expresión de UCP1, la proteína termogénica más importante en roedores, aumentando así el gasto de energía.[21] El wolframato también induce la expresión de genes relacionados con el transporte de ácidos grasos y su oxidación en el tejido adiposo. Todo ello sugería que el wolframato podía ser un agente eficaz para tratar la obesidad en humanos. Sin embargo, la fase 2 de ensayos clínicos no permitió detectar un efecto significativo, probablemente debido a que se usaron dosis demasiado bajas y tratamientos excesivamente cortos.

En los pacientes de enfermedad de Alzheimer, la GSK3 se encuentra anómalamente activa, lo que se traduce en incremento en la fosforilación de la proteína asociada a microtúbulos denominada factor tau. Esto contribuye a su agregación en forma de los denominados ovillos neurofibrilares que, junto a los depósitos de amiloide, son las señas de identidad de esta enfermedad. Puesto que el wolframato induce la inactivación de GSK3, sondeamos la posibilidad de su utilidad para evitar la hiperfosforilación del factor tau, la formación de los ovillos neurofibrilares y, por tanto, la degeneración neuronal asociada a la enfermedad de Alzheimer. El desarrollo de este proyecto fue realizado de forma coordinada con el laboratorio de Jesús Ávila en el Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» del CSIC en Madrid. En primer lugar determinamos que el tratamiento con wolframato ejercía acciones similares en neuronas a las observadas en otros tipos celulares, entre ellas la inhibición de la GSK3, y que esta era dependiente de la activación de ERK1/2. A continuación observamos que, como consecuencia de la mencionada inhibición de la GSK3, se producía una disminución significativa de la fosforilación del factor tau en los residuos que son diana de esta proteína quinasa.[22] En consecuencia, el wolframato, al ser un inhibidor potencial de la formación de los ovillos neurofibrilares, podría evitar la muerte neuronal asociada a la enfermedad de Alzheimer.

Glucógeno e ingesta

Los pacientes diabéticos no acumulan bien la glucosa en el hígado, siendo este uno de los motivos por el que sufren hiperglucemia. En estudios con ratas diabéticas advertimos que, restaurando la capacidad del hígado para sintetizar glucógeno, los animales no solo mostraban una reducción en su glucemia, sino que comían menos.[23] Recientemente hemos demostrado que ratones sanos que tienen reservas altas de glucógeno hepático engordan menos aunque se les ofrezca una dieta muy apetitosa porque se sienten saciados. Analizando en el hipotálamo la expresión de dos neuropéptidos asociados con el control del apetito, observamos que los ratones tenían una menor expresión de neuropéptido Y, que es estimulante del apetito, mientras que tenían niveles altos del péptido propiomelanocortina, depresor del apetito. Hay una perfecta correlación entre los niveles

de glucógeno en el hígado y los de moléculas saciantes en el cerebro. Pero faltaba la conexión, ¿cuál es la identidad molecular del sensor que detecta el glucógeno del hígado y transmite la señal al cerebro para que se deje de comer? La clave de la conexión hígado-cerebro son los niveles hepáticos de ATP, que se encuentran disminuidos en diabetes y obesidad pero que se normalizan al aumentar el glucógeno[24]. Esto nos permite postular que aumentar la producción de glucógeno hepático sería un tratamiento eficaz para mejorar la diabetes y la obesidad.

Enfermedad de Lafora

Cuando parecía que conocíamos todos los mecanismos de regulación de la GS, hemos descubierto uno nuevo que actúa a través del control de la degradación de la enzima. Eso fue posible gracias al estudio de una enfermedad rara, la enfermedad de Lafora. La epilepsia mioclónica progresiva de Lafora es una enfermedad neurodegenerativa caracterizada por la presencia de depósitos intracelulares, denominados cuerpos de Lafora, formados por glucógeno aberrante. Fue descrita por el médico español Gonzalo Rodríguez Lafora (1886-1971). La enfermedad es causada por mutaciones recesivas en el gen que codifica para una proteína con actividad proteína fosfatasa dual capaz de interaccionar con carbohidratos, conocida como laforina, o en el gen que codifica para una proteína denominada malina con actividad E3 ubiquitina ligasa. Los mecanismos moleculares por los que mutaciones en estos genes dan lugar a la enfermedad no habían sido definidos, mientras que el papel fisiológico de laforina y malina es aún objeto de controversia. En colaboración con Santiago Rodríguez de Córdoba (CIB-CSIC) demostramos que malina y laforina forman un complejo que regula la síntesis y deposición de glucógeno en las neuronas.[25]

También hemos demostrado que laforina y malina tienen una función directa en la formación de los cuerpos de Lafora. Así, los ratones en los que habíamos delecionado el gen de la malina acumulaban cuerpos de Lafora, sufrían epilepsia y mostraban neurodegeneración, reproduciendo así la historia natural de la enfermedad en humanos.[26] Más aún, usando animales modificados genéticamente e incapaces de sintetizar glucógeno en el sistema nervioso hemos demostrado claramente que la acumulación del polisacárido es la causa de la enfermedad, ya que si se bloquea su síntesis la enfermedad no se manifiesta.[27] En otros animales en los que se ha incrementado la capacidad de acumular glucógeno en determinadas neuronas hemos observado que se induce neurodegeneración.[28] Igualmente, la presencia de inclusiones, llamadas *corpora amylacea,* en el cerebro de los humanos y animales viejos similares a los cuerpos de Lafora, sugiere que la acumulación de glucógeno también desempeña un papel en el deterioro neurológico asociado a la edad.[29] En estos casos, la GS se perfila como una posible diana terapéutica, ya que su inhibición debería evitar la acumulación de los cuerpos de Lafora y de *corpora amylacea*. El reto es encontrar productos con capacidad de inhibir a la enzima y de traspasar la barrera hematoencefálica.

Una consecuencia inesperada de estos estudios ha sido demostrar que las neuronas no son una excepción en lo que se refiere a la presencia de las enzimas del metabolismo del glucógeno. Puesto que estas células normalmente no lo acumulan, se daba por supuesto que en ellas el polisacárido no tenía ningún protagonismo, pero recientemente hemos demostrado

que las neuronas tienen un activo metabolismo del glucógeno y que es importante en condiciones de estrés como la hipoxia.[30] Esta constatación obliga a replantear las teorías comúnmente aceptadas sobre el metabolismo energético del cerebro.

Esta línea de investigación tiene un corolario. El estudio de una enfermedad rara nos ha aportado el descubrimiento de un nuevo mecanismo de regulación de la síntesis del glucógeno cuya existencia nadie hubiera podido intuir. Y viceversa, el conocimiento de los mecanismos celulares del almacenamiento de glucosa han arrojado luz sobre una enfermedad, la de Lafora, que nadie sospechaba que estuviera relacionada con el metabolismo de la glucosa.

Durante los años 2005 a 2009 mis investigaciones se beneficiaron del apoyo de la Fundación Botín. Sin su ayuda no se hubieran podido generar los animales modificados genéticamente que se han utilizado en estos trabajos y que han abierto una nueva vía al estudio de las enfermedades neurodegenerativas. Gracias, pues, a la Fundación Botín.

Bibliografía

1. C. Horcajada, J. J. Guinovart, I. Fita y J. C. Ferrer, «Crystal structure of an archaeal glycogen synthase: insights into oligomerization and substrate binding of eukaryotic glycogen synthase», en *J Biol Chem*, vol. 281, n.º 5, 3 de febrero de 2006, pp. 2923-2931. EPUB, 29 de noviembre de 2005.

2. E. Cid, R. R. Gomis, R. A. Geremia, J. J. Guinovart y J. C. Ferrer, «Identification of two essential glutamic acid residues in glycogen synthase», en *J Biol Chem,* vol. 275, n.º 43, 27 de octubre de 2000, pp. 33614-33621.

3. A. Díaz, C. Martínez-Pons, I. Fita, J. C. Ferrer y J. J. Guinovart, «Processivity and subcellular localization of glycogen synthase depend on a non-catalytic high affinity glycogen-binding site», en *J Biol Chem,* vol. 286, n.º 21, 25 de mayo de 2011, pp. 18505-18514. DOI: 10.1074/jbc.M111.236109. EPUB, 4 de abril de 2011.

4. C. J. Ciudad, A. Carabaza y J. J. Guinovart, «Glucose 6-phosphate plays a central role in the activation of glycogen synthase by glucose in hepatocytes», en *Biochem Biophys Res Commun*, 30 de diciembre de 1986, vol. 141, n.º 3, pp. 1195-1200.

5. A. Carabaza, C. J. Ciudad, S. Baqué y J. J. Guinovart, «Glucose has to be phosphorylated to activate glycogen synthase, but not to inactivate glycogen phosphorylase in hepatocytes», en *FEBS Lett*, vol. 296, n.º 2, 20 de enero de 1992, pp. 211-214.

6. J. Seoane, A. M. Gómez-Foix, R. M. O'Doherty, C. Gómez-Ara, C. B. Newgard y J. J. Guinovart, «Glucose 6-phosphate produced by glucokinase, but not hexokinase I, promotes the activation of hepatic glycogen synthase», en *J Biol Chem*, vol. 271, n.º 39, 27 de septiembre de 1996, pp. 23756-23760.

7. R. R. Gomis, J. C. Ferrer y J. J. Guinovart, «Shared control of hepatic glycogen synthesis by glycogen synthase and glucokinase», en *Biochem J*, vol. 351, pt. 3, 1 de noviembre de 2000, pp. 811-816.

8. A. von Wilamowitz-Moellendorff, R. W. Hunter, M. García-Rocha, L. Kang, I. López-Soldado, L. Lantier, K. Patel, M. W. Peggie, C. Martínez-Pons, M. Voss, J. Calbó, P. T. Cohen, D. H. Wasserman, J. J. Guinovart y K. Sakamoto, «Glucose-6-phosphate-mediated activation of liver glycogen synthase plays a key role in hepatic glycogen synthesis», en *Diabetes*, vol. 62, n.º 12, diciembre de 2013, pp. 4070-4082. DOI: 10.2337/db13-0880. EPUB, 29 de agosto de 2013.

9. J. C. Ferrer, S. Baqué, y J. J. Guinovart, «Muscle glycogen synthase translocates from the cell nucleus to the cytosol in response to glucose», en *FEBS Lett*, vol. 415, n.º 3, 6 de octubre de 1997, pp. 249-252.

10. E. Cid, D. Cifuentes, S. Baqué, J. C. Ferrer y J. J. Guinovart, «Determinants of the nucleocytoplasmic shuttling of muscle glycogen synthase», en *FEBS J*, vol. 272, n.º 12, junio de 2005, pp. 3197-3213.

11. J. M. Fernández-Novell, D. Bellido, S. Vilaró y J. J. Guinovart, «Glucose induces the translocation of glycogen synthase to the cell cortex in rat hepatocytes», en *Biochem J,* vol. 321, pt. 1, 1 de enero de 1997, pp. 227-231.

12. J. M. Fernández-Novell, C. López-Iglesias, J. C. Ferrer y J. J. Guinovart, «Zonal distribution of glycogen synthesis in isolated rat hepatocytes», en *FEBS Lett*, vol. 531, n.º 2, 6 de noviembre de 2002, pp. 222-228.

13. M. García-Rocha, A. Roca, N. de la Iglesia, O. Baba, J. M. Fernández-Novell, J. C. Ferrer y J. J. Guinovart, «Intracellular distribution of glycogen synthase and glycogen in primary cultured rat hepatocytes», en *Biochem J*, vol. 357, pt. 1, 1 de julio de 2001, pp. 17-24.

14. A. Barberà, J. E. Rodríguez-Gil y J. J. Guinovart, «Insulin-like actions of tungstate in diabetic rats. Normalization of hepatic glucose metabolism», en *J Biol Chem*, vol. 269, n.º 31, agosto de 1994, pp. 20047-20053.

15. A. Barberà, R. R. Gomis, N. Prats, J. E. Rodríguez-Gil, M. Domingo, R. Gomis y J. J. Guinovart, «Tungstate is an effective antidiabetic agent in streptozotocin-induced diabetic rats: a long-term study», en *Diabetologia,* vol. 44, n.º 4, abril de 2001, pp. 507-513.

16. A. Barberà, J. Fernàndez-Álvarez, A. Truc, R. Gomis y J. J. Guinovart, «Effects of tungstate in neonatally streptozotocin-induced diabetic rats: mechanism leading to normalization of glycaemia», en *Diabetologia*, vol. 4, n.º 2, febrero de 1997, pp. 143-149.

17. J. Fernández-Álvarez, A. Barberà, B. Nadal, S. Barceló-Batllori, S. Piquer, M. Claret, J. J. Guinovart y R. Gomis, «Stable and functional regeneration of pancreatic beta-cell population in nSTZ-rats treated with tungstate», en *Diabetologia*, vol. 47, n.º 3, marzo de 2004, pp. 470-477. EPUB, 14 de febrero de 2004.

18. M. C. Muñoz, A. Barberà, J. Domínguez, J. Fernàndez-Álvarez, R. Gomis y J. J. Guinovart, «Effects of tungstate, a new potential oral antidiabetic agent, in Zucker diabetic fatty rats», en *Diabetes*, vol. 50, n.º 1, enero de 2001, pp. 131-138.

19. J. E. Domínguez, M. C. Muñoz, D. Zafra, I. Sánchez-Pérez, S. Baqué, M. Caron, C. Mercurio, A. Barberà, R. Perona, R. Gomis y J. J. Guinovart, «The antidiabetic agent sodium tungstate activates glycogen synthesis through an insulin receptor-independent pathway», en *J Biol Chem*, vol. 278, n.º 44, 31 de octubre de 2003, pp. 42785-42794. EPUB, 18 de agosto de 2003.

20. D. Zafra, L. Nocito, J. Domínguez y J. J. Guinovart, «Sodium tungstate activates glycogen synthesis through a non-canonical mechanism involving G-proteins», en *FEBS Lett*, vol. 587, n.º 3, 31 de enero de 2013, pp. 291-296. DOI: 10.1016/j.febslet.2012.11.034. EPUB, 19 de diciembre de 2012.

21. M. Claret, H. Corominola, I. Canals, J. Saura, S. Barceló-Batllori, J. J. Guinovart y R. Gomis, «Tungstate decreases weight gain and adiposity in obese rats through increased thermogenesis and lipid oxidation», en *Endocrinology*, vol. 146, n.º 10, octubre de 2005, pp. 4362-4369. EPUB, 7 de julio de 2005.

22. A. Gómez-Ramos, J. Domínguez, D. Zafra, H. Corominola, R. Gomis, J. J. Guinovart y J. Ávila, «Sodium tungstate decreases the phosphorylation of tau through GSK3 inactivation», en *J Neurosci Res*, vol. 83, n.º 2, 1 de febrero de 2006, pp. 264-273.

23. S. Ros, M. García-Rocha, J. Calbó y J. J. Guinovart, «Restoration of hepatic glycogen deposition reduces hyperglycaemia, hyperphagia and gluconeogenic enzymes in a streptozotocin-induced model of diabetes in rats», en *Diabetologia*, vol. 54, n.º 10, octubre de 2011, pp. 2639-2648. DOI: 10.1007/s00125-011-2238-x. EPUB, 3 de agosto de 2011.

24. I. López-Soldado, D. Zafra, J. Durán, A. Adrover, J. Calbó y J. J. Guinovart, «Liver glycogen reduces food intake and attenuates obesity in a high-fat diet-fed mouse model», en *Diabetes*, 2 de octubre de 2014. pii: DB_140728. EPUB, antes de impresión.

25. D. Vilchez, S. Ros, D. Cifuentes, L. Pujadas, J. Vallès, B. García-Fojeda, O. Criado-García, E. Fernández-Sánchez, I. Medraño-Fernández, J. Domínguez, M. García-Rocha, E. Soriano, S. Rodríguez de Córdoba y J. J. Guinovart, «Mechanism suppressing glycogen synthesis in neurons and its demise in progressive myoclonus epilepsy», en *Nat Neurosci*, vol. 10, n.º 11, noviembre de 2007, pp. 1407-1413. EPUB, 21 de octubre de 2007.

26. J. Valles-Ortega, J. Durán, M. García-Rocha, C. Bosch, I. Sáez, L. Pujadas, A. Serafín, X. Cañas, E. Soriano, J. M. Delgado-García, A. Gruart y J. J. Guinovart, «Neurodegeneration and functional impairments associated with glycogen synthase accumulation in a mouse model of Lafora disease», en *EMBO Mol Med*, vol. 3, n.º 11, noviembre de 2011, pp. 667-681. DOI: 10.1002/emmm.201100174. EPUB, 29 de agosto de 2011.

27. Durán, A. Gruart, M. García-Rocha, J. M. Delgado-García y J. J. Guinovart, «Glycogen accumulation underlies neurodegeneration and autophagy impairment in Lafora disease», en *Hum Mol Genet*, vol. 23, n.º 12, 15 de junio de 2014, pp. 3147-3156. DOI: 10.1093/hmg/ddu024. EPUB, 22 de enero de 2014.

28. J. Durán, M. F. Tevy, M. García-Rocha, J. Calbó, M. Milán y J. J. Guinovart, «Deleterious effects of neuronal accumulation of glycogen in flies and mice», en *EMBO Mol Med,* vol. 4, n.º 8, agosto de 2012, pp. 719-729. DOI: 10.1002/emmm.201200241. EPUB, 2 de mayo de 2012.

29. C. Sinadinos, J. Valles-Ortega, L. Boulan, E. Solsona, M. F. Tevy, M. Márquez, J. Durán, C. López-Iglesias, J. Calbó, E. Blasco, M. Pumarola, M .Milán y J. J. Guinovart, «Neuronal glycogen synthesis contributes to physiological aging», en *Aging Cell,* vol. 13, n.º 5, octubre de 2015, pp. 935-945. DOI: 10.1111/acel.12254. EPUB, 25 de Julio de 2014.

30. I. Sáez, J. Durán, C. Sinadinos, A. Beltrán, O. Yanes, M. F. Tevy, C. Martínez-Pons, M. Milán y J. J. Guinovart, «Neurons have an active glycogen metabolism that contributes to tolerance to hypoxia», en *J Cereb Blood Flow Metab*, vol. 34, n.º 6, junio de 2014, pp. 945-955. DOI: 10.1038/jcbfm.2014.33. EPUB, 26 de febrero de 2014.

CARLOS LÓPEZ OTÍN

LA VIDA Y LA ENFERMEDAD EN LA ERA GENÓMICA

8

Nací el último mes de un año gélido en Sabiñánigo, un pueblo del Pirineo aragonés, rodeado de una naturaleza imponente que despertaba la curiosidad por la vida. Tras la Guerra Civil, mi pueblo creció de manera desordenada y confusa en torno a varias fábricas de productos químicos que aprovechaban con avidez nuestro recurso más abundante: el agua. En aquella época, las oportunidades de llegar a la universidad eran mínimas, pero en mi familia siempre hubo un gran aprecio por valores como el esfuerzo, la tenacidad y el compromiso. Impulsado por ellos y por los profesores de lo que entonces se llamaba Instituto Laboral, comencé la licenciatura en Ciencias Químicas en la Universidad de Zaragoza, con la idea futura de volver a casa para trabajar en alguna de aquellas fábricas en las que los obreros eran del pueblo y los directores venían de fuera. La estrategia de mis primeros mentores parecía clara: fomentar el progreso social a través del estudio. En Zaragoza, el primer día de clase encontré a un profesor con nombre de personaje de novela costumbrista, don Horacio Marco, muy duro y exigente con los alumnos, pero a la vez enormemente inspirador. Sus lecciones de Biología me abrieron los ojos a una forma de aproximación al estudio de la vida que yo desconocía hasta entonces. Fue él quien desechó mi afán por ampliar mi formación académica en la medicina y me aconsejó trasladarme a Madrid para estudiar Bioquímica y Biología Molecular. Y como las decisiones más importantes de nuestras vidas las toman otros en lugar de nosotros, un día del final del verano de 1978 subí a un tren aragonés que, tras un larguísimo viaje, me llevó a la capital de España. Allí, en la Universidad Complutense, conocí a profesores extraordinarios, como Margarita Salas y José G. Gavilanes, que decidieron para siempre mi propia vocación científica.

Realicé mi tesis doctoral en el Centro Ramón y Cajal de Madrid bajo la dirección de Enrique Méndez, y trabajé después con Eladio Viñuela en el Centro de Biología Molecular «Severo Ochoa» de Madrid. Ambos me impregnaron de conceptos como la curiosidad intelectual y el rigor experimental, que marcaron para siempre mi labor investigadora. En distintas etapas de mi carrera científica trabajé también en las universidades de Lund (Suecia), Nueva York y Harvard, pero la mayor parte de mi labor profesional se ha desarrollado en la Universidad de Oviedo, a la que me incorporé en 1987 y en la que encontré mi lugar en el mundo.

Los sistemas proteolíticos

En este mismo lugar en el que escribo estas páginas, comenzamos a gestar de manera muy modesta un trabajo dirigido a explorar la idea de que los sistemas proteolíticos podían desempeñar un papel fundamental en la progresión del cáncer. Las bases que sustentaron esta decisión no fueron otras que las dictadas por las enseñanzas de mis mentores, que me ilustraron en los fundamentos de la ciencia dirigida por hipótesis. En nuestro caso, la hipótesis de partida consistió en imaginar que las proteasas, debido a su

gran potencial destructor de proteínas, podían abrir caminos tisulares para que las células tumorales, además de egoístas e inmortales, fueran también entidades viajeras capaces de migrar a sitios distintos y distantes del tumor primario, y generar las metástasis que representan la cara más oscura de los tumores malignos.

Profundizando en las claves de la hipótesis fundacional de nuestro laboratorio, cabe recordar que, dada la legendaria estabilidad del enlace peptídico, la proteólisis es un proceso que debe catalizarse por ese complejo grupo de enzimas llamados proteasas. Inicialmente, estas proteínas se asociaron a reacciones inespecíficas del catabolismo proteico y su estudio quedó circunscrito a este ámbito durante varias décadas. Sin embargo, el transcurso del tiempo y la experimentación biológica determinaron que nuestra visión del universo proteolítico se fuera expandiendo hasta alcanzar límites que resultarían insospechados para sus primeros exploradores. En efecto, hoy sabemos que las proteasas, a través de cortes selectivos en sus correspondientes sustratos, ejecutan reacciones irreversibles que influyen decisivamente en múltiples procesos biológicos, como el desarrollo embrionario, el remodelado tisular, la angiogénesis, la apoptosis, la fertilización, la coagulación sanguínea, el funcionamiento del sistema inmunológico o el establecimiento de rutas neuronales. Considerando esta multiplicidad de funciones, no resulta extraño constatar que diversos cambios en la estructura o expresión de las enzimas proteolíticas se encuentren asociados a numerosos procesos patológicos que incluyen el cáncer, la artritis, las alteraciones cardiovasculares o las enfermedades neurodegenerativas. Además, muchos microorganismos, como el virus del sida, utilizan proteasas como factores de virulencia, por lo que, de una forma u otra, estas enzimas se han convertido en dianas para el diseño de nuevos fármacos. Por ello, en los últimos años, ha habido un interés creciente por la identificación y caracterización de los múltiples componentes de los sistemas proteolíticos que operan en los distintos seres vivos, desde las bacterias hasta el hombre.

Es precisamente en este contexto de diversidad proteolítica en el que se enmarcó el trabajo inicial de nuestro grupo en la Universidad de Oviedo, donde, tras formular las primeras hipótesis sobre las proteasas tumorales, tratamos de progresar en el análisis de su implicación funcional en el cáncer y en otras patologías. Los estudios realizados en este sentido nos condujeron a la identificación y caracterización bioquímica de más de sesenta nuevas proteasas humanas, descubiertas como consecuencia de su sobreexpresión en distintos tipos de tumores o por su participación en procesos de remodelación tisular que guardan un cierto paralelismo con los procesos tumorales. Tras la identificación de estas nuevas proteínas humanas, nuestra labor se centró en una amplia caracterización funcional de estas, que pudiera servir como base para definir sus implicaciones en el cáncer o en otras enfermedades. Asimismo, realizamos estudios dirigidos a analizar los mecanismos que regulan su expresión en condiciones normales y patológicas. El estudio de estos mecanismos reguladores proporcionó nuevas claves acerca de la etiopatogenia de las enfermedades neoplásicas y de otros procesos, como la artritis, en los que también se sobreexpresan muchas de estas enzimas.

La relevancia patológica de las nuevas proteasas humanas identificadas en nuestro laboratorio parecía derivar en gran medida de las alteraciones en sus patrones espacio-temporales de expresión durante el desarrollo del cáncer y otras patologías. Sin embargo, estudios posteriores revelaron que deficiencias congénitas en estos nuevos genes causaban

distintas enfermedades hereditarias, incluyendo graves anomalías óseas y hematológicas, o devastadores síndromes de envejecimiento acelerado. Creció así el significado patológico de unas proteínas cuya diversidad funcional comenzaba a reclamar nuevas tecnologías que nos permitieran navegar con cierta confianza entre su creciente complejidad.

De ratones y hombres

La biología molecular fue progresando y, al amparo de las propiedades derivadas de la elegante estructura en doble hélice del ADN, se fueron introduciendo metodologías que ampliaron nuestra manera de abordar los problemas biológicos. Así, en torno al año 2000, nuestro grupo inició diversas aproximaciones al estudio de los sistemas proteolíticos basadas en la generación de modelos animales que implicaban sobreexpresión o eliminación de genes codificantes de proteasas. Pensábamos que estas estrategias podían conducir a una mejor comprensión de la participación de estas enzimas en el desarrollo del cáncer y proporcionar nuevas ideas acerca de sus funciones fisiológicas. En efecto, este trabajo, todavía en curso y que sin duda se extenderá durante varias generaciones de estudiantes, nos ha llevado a demostrar que algunas proteasas, originalmente descubiertas en nuestro laboratorio por sus alteraciones en el cáncer, desempeñan funciones decisivas en procesos tan diversos como el metabolismo del hierro, la formación de los huesos, la percepción del dolor o el control del envejecimiento del organismo.

Como ejemplo ilustrativo de estos trabajos con modelos animales, la generación y análisis de ratones deficientes en la metaloproteasa FACE-1/Zmpste24 nos condujo al hallazgo de su papel central en la formación y estabilización de la envuelta nuclear. La labor experimental con estos animales adquirió una dimensión adicional tras el descubrimiento de que mutaciones en el gen de esta metaloproteasa o en el de su sustrato lámina A causan diversos síndromes de envejecimiento acelerado en humanos. Curiosamente, en estudios recientes con los ratones *Zmpste24*$^{-/-}$ hemos observado que el extraordinario envejecimiento prematuro que muestran estos animales se asocia a la hiperactivación crónica de rutas de supresión tumoral, avalando así la idea de la pleiotropía antagónica entre el envejecimiento y el cáncer. De igual modo, hemos descrito la existencia de profundas alteraciones en la morfología y regulación de las células stem de estos ratones progeroides, sustanciando la hipótesis de que el envejecimiento surge de disfunciones en dichas células progenitoras. Por último, hemos demostrado que el dramático fenotipo de envejecimiento prematuro de estos ratones puede aliviarse y hasta corregirse completamente mediante estrategias de manipulación genética o a través de tratamientos farmacológicos dirigidos a disminuir los niveles de prelamina A acumulada en sus células. Estos hallazgos han servido para introducir las primeras terapias para enfermos con síndrome progeroide de Hutchinson-Gilford, que están siendo tratados en la actualidad con una combinación de estatinas y bifosfonatos diseñada en nuestro laboratorio en colaboración con el doctor N. Levy. Con ello, aspiramos a paliar las múltiples deficiencias fisiológicas de estos pacientes, mejorar su calidad de vida y alargarla en la medida de lo posible. Además, estas investigaciones, unidas a otras semejantes llevadas a cabo en distintas progerias, representan una prueba adicional de que procesos tan complejos como el envejecimiento son susceptibles de un análisis profundo y riguroso dirigido a entender sus aspectos moleculares fundamentales.

Los lenguajes ómicos y la regulación biológica

Los hallazgos derivados de estos estudios en «ratones y hombres» representan claros ejemplos de la necesidad de mantener la actividad enzimática de las proteasas en sus justos niveles. Un exceso de estas puede favorecer procesos de destrucción tisular como los que acompañan al cáncer, y una deficiencia proteolítica puede conducir al desarrollo de otras patologías que también comprometen la vida de los pacientes. Estas ideas constituyeron la base de nuestra propuesta de una aproximación global al estudio de los sistemas proteolíticos a través de la introducción de nuevos conceptos, como el de *degradoma*, para definir el conjunto de genes codificantes de proteasas en un determinado organismo. En paralelo, comenzamos a implementar nuevas metodologías, denominadas degradómicas, que permitieron dotar de contenido experimental a estos conceptos globales surgidos en torno a los sistemas proteolíticos.

La aplicación de estas estrategias degradómicas resultó especialmente ilustrativa en el caso del cáncer. Así, la combinación de experimentos genéticos y bioquímicos dirigidos a evaluar las funciones in vivo de diversas enzimas proteolíticas nos condujo al sorprendente hallazgo de que algunas proteasas, como la colagenasa-2, desempeñan una función protectora frente a la progresión tumoral y no la función promotora del cáncer tradicionalmente adscrita a estas. Este descubrimiento abrió el camino hacia la definición de nuevos mecanismos antitumorales mediados por proteasas, basados fundamentalmente en su capacidad de regular la respuesta inmune antitumoral que acompaña al desarrollo de los procesos malignos. Además, este trabajo proporcionó una explicación a los deficientes resultados clínicos obtenidos al tratar pacientes tumorales con inhibidores de proteasas de amplio espectro, incapaces de distinguir entre las funciones protumorales y antitumorales de estas enzimas. Se impuso así la obligación de examinar en su conjunto el degradoma tumoral, para intentar definir en cada tumor de cada paciente las proteasas más adecuadas como dianas de intervención terapéutica. De la misma manera, el descubrimiento de las proteasas antitumorales conllevó la absoluta necesidad de diseñar y utilizar inhibidores específicos frente a las distintas proteasas protumorales.

Seguidamente, la confianza adquirida en las posibilidades de los estudios globales del degradoma nos condujo a explorar, en colaboración con el doctor Tony Hunter, las interacciones entre proteasas y quinasas tumorales, en lo que constituyó el primer estudio conjunto de ambos sistemas enzimáticos de importancia capital en el cáncer. El hallazgo de múltiples pruebas del fértil diálogo entre el degradoma y el quinoma contribuyó a la elaboración de nuevas propuestas para el tratamiento de pacientes con cáncer, basadas en la intervención coordinada sobre componentes específicos de ambos sistemas. Además, este trabajo ayudó a asentar la idea de que el degradoma es un elemento central en la exquisita y precisa red de regulación biológica que hace posible cada instante de vida en cada organismo.

El conocimiento acumulado en el campo de la regulación biológica ha demostrado la diversidad de los mecanismos que controlan la expresión de la enorme cantidad de información que portan todos los seres vivos. No obstante, más allá de esta complejidad que parece tan inabordable como *El libro de arena* del gran Borges, los estudios iniciados por Jacob y Monod, y

extendidos por múltiples autores en años posteriores, apuntaron a la existencia de un nivel esencial de decisión: la regulación de la transcripción. El intrincado problema de la regulación biológica quedaba así planteado en términos mucho más accesibles: transcribirse o no transcribirse, esta es la cuestión principal que deben afrontar los genes de un organismo en cada instante y en cada lugar. Sin embargo, a medida que se fue progresando en la búsqueda de respuestas a esta pregunta, quedó patente que el control transcripcional no era suficiente para explicar la regulación de la expresión génica. De esta manera, los nuevos niveles de regulación postranscripcional, incluyendo los orquestados por las numerosas tribus de microARN recientemente descubiertas en el lado oculto del genoma, cuestionan la primacía del todopoderoso control transcripcional. Además, tampoco basta con regular la producción de proteínas a través de la expresión de sus genes, dado que también hay que inactivarlas o destruirlas cuando sus funciones ya no son necesarias. Por otra parte, muchas proteínas se sintetizan como moléculas precursoras inactivas que deben activarse en el lugar y el momento adecuados. Por ello, todos los organismos han desarrollado numerosas estrategias para intentar regular la actividad de sus proteínas, una vez que son sintetizadas. Nuestro trabajo en este campo, unido al de otros grupos que han explorado caminos semejantes, ha servido para afianzar definitivamente la idea de que la regulación por proteólisis es uno de estos mecanismos decisivos para modular la vida y muerte de todas las células, en todos los organismos, en la salud y en la enfermedad. Solo así puede explicarse el sorprendente hecho de que nuestro genoma posea alrededor de seiscientos genes distintos codificantes de proteínas capaces de llevar a cabo una misma tarea bioquímica: la hidrólisis del enlace peptídico.

Centrándonos en el caso concreto del cáncer, hemos podido demostrar que los diversos componentes del degradoma desempeñan funciones reguladoras que inciden sobre la práctica totalidad de «las claves del cáncer», definidas brillantemente por Hanahan y Weinberg como las diversas características bioquímicas adquiridas por las células transformadas y compartidas por la mayoría de los tumores. Así, distintas proteasas descubiertas en nuestro laboratorio participan en la adquisición de mecanismos autónomos de proliferación, determinan la insensibilidad a las señales de inhibición del crecimiento celular, favorecen la generación de estrategias de resistencia a la apoptosis, impulsan cambios en el metabolismo energético, causan alteraciones en la compleja respuesta inflamatoria asociada al cáncer y modulan el desarrollo de los programas de angiogénesis que aportan el oxígeno y los nutrientes requeridos para la progresión tumoral. Y sí, finalmente también pudimos confirmar que algunas proteasas se acomodan fielmente a nuestra hipótesis inicial y contribuyen decisivamente a que las células tumorales adquieran la capacidad letal de invadir otros territorios corporales y generar metástasis.

Los genomas del cáncer

Precisamente, estudiando gen a gen, proteasa a proteasa y ratón a ratón, fue transcurriendo el tiempo hasta que, tras más de dos décadas examinando la complejidad del cáncer bajo un minimalista prisma proteolítico, intuimos que había llegado el momento de extender nuestra mirada más allá de esa ciencia dirigida por hipótesis aprendida de mis maestros. De esta manera, surgió la idea de presentar nuestra candidatura a formar parte del Consorcio Internacional para el Estudio de los Genomas del Cáncer (ICGC). A finales de 2008,

este proyecto representaba un buen ejemplo de una incipiente «ciencia agnóstica» basada en la acumulación masiva de datos que, una vez analizados bajo una experta mirada humana, pudieran ayudarnos a formular las hipótesis de trabajo. Aquel año, la tecnología ya había hecho retroceder velozmente el concepto de imposible, de manera que se podía secuenciar el genoma completo de un tumor en un tiempo mínimo y a un coste muy razonable.

Ante nuestros ojos, el proyecto ICGC poseía todos los argumentos para llegar a ser un hito fundamental en la investigación oncológica, ya que constituía la iniciativa más ambiciosa para abordar con detenimiento el estudio molecular del cáncer. En su formulación inicial, el proyecto pretendía determinar la secuencia completa de nucleótidos de al menos quinientos genomas tumorales de pacientes con cada uno de los tipos de cáncer más frecuentes, incluyendo enfermos con la neoplasia hematológica más común, la leucemia linfática crónica, cuyo estudio fue el subproyecto que se adjudicó a nuestro país. Desde 2009, nuestro laboratorio, junto con el grupo del doctor E. Campo en el Hospital Clínic de Barcelona, asumió la responsabilidad de coordinar este trabajo que acaba de completar su primera fase en el otoño de 2014, con el desciframiento del genoma tumoral de quinientos pacientes con leucemia linfática crónica.

La labor realizada en este ámbito nos ha permitido identificar mutaciones recurrentes en varios genes, como NOTCH1, SF3B1, POT1 y CHD2, que han pasado a convertirse en dianas preferentes de intervención terapéutica en leucemias y otras neoplasias. En paralelo, hemos examinado la biografía genómica de otros tumores, incluyendo linfomas, melanomas y carcinomas de laringe, lo cual nos ha llevado al hallazgo de nuevos genes supresores de tumores como CTNNA2 y CTNNA3. Además, el trabajo realizado en colaboración con otros grupos integrados en el ICGC, y especialmente con el equipo dirigido por el doctor M. Stratton, ha propiciado la identificación de nuevos mecanismos mutagénicos implicados en la génesis del cáncer, y la introducción de innovadoras estrategias de medicina personalizada para su diagnóstico, seguimiento y tratamiento. Estamos entrando así en una nueva era de la investigación oncológica que marcará el futuro abordaje clínico de una enfermedad que representa todavía un ejemplo claro y persistente de la vulnerabilidad humana. Tenemos la confianza de que los resultados del ICGC, sumados a los de proyectos equivalentes o complementarios, como TCGA y PanCancer, permitirán en un futuro cercano disponer de una información fundamental acerca del paisaje genético del cáncer, que no es una enfermedad sino muchas distintas, forzando así la búsqueda de terapias específicas para cada paciente.

Las enfermedades hereditarias a la luz del genoma

El proyecto de los genomas del cáncer ha tenido una serie de beneficios colaterales de gran interés para nuestro grupo y hasta para nuestro propio entorno. De esta manera, utilizando la misma tecnología desarrollada para los estudios mutacionales del cáncer, incluyendo el algoritmo informático llamado *Sidrón*, hemos podido identificar la causa de diversas enfermedades hereditarias. Entre los trabajos recientes realizados en este sentido destaca el descubrimiento de una nueva forma de envejecimiento prematuro hereditario causado por mutaciones en el gen BANF1, que hemos denominado síndrome de Néstor-Guillermo, para reconocer la ejemplar actitud de dos jóvenes pacientes que se acercaron

a nuestro laboratorio en busca de salud e información sobre su enfermedad. Esta patología, rara entre las raras, conlleva una aceleración desbocada del reloj de la vida; es como si las horas transcurrieran en minutos y estos en segundos, de forma que en unos pocos años el organismo experimenta todas las transformaciones que habitualmente acontecen en varias décadas. Este trabajo, que fue pionero en España y uno de los primeros realizados en el mundo utilizando esta aproximación genómica, no sirvió para curar la avanzada enfermedad de Néstor, pero tuvo consecuencias positivas para su familia y para la de Guillermo. Así, un sencillo análisis mutacional del gen BANF1 permitió identificar en ambas familias a los portadores sanos de una copia del gen mutado, que podrán beneficiarse del apropiado consejo genético para evitar transmitir a su descendencia esta nueva forma de progeria.

Siguiendo la estela de Néstor y Guillermo, otros pacientes con patologías muy diversas han puesto en nuestras manos la responsabilidad de examinar sus genomas en busca de esos cambios mínimos que transforman sus vidas y las de sus familias. En muchas ocasiones, una sola mutación entre los más de 3.000 millones de nucleótidos que configuran nuestro material genético es suficiente para demoler el sofisticado plan biológico que determina el desarrollo y mantenimiento de un ser humano, ilustrando una vez más nuestra fragilidad y nuestra vulnerabilidad. Un ejemplo adicional en este mismo ámbito es un reciente estudio de nuestro laboratorio basado en la secuenciación del genoma de pacientes con miocardiopatía hipertrófica, que nos ha llevado a descubrir una nueva forma hereditaria de esta enfermedad e identificar el gen cuyas mutaciones la provocan.

La miocardiopatía hipertrófica es una patología relativamente frecuente que representa una de las causas principales de muerte súbita en adultos jóvenes. En los últimos años, el estudio de casos familiares de esta enfermedad ha permitido descubrir diversos genes cuyas mutaciones provocan su desarrollo en aproximadamente el 50% de los pacientes. Sin embargo, se desconocen los genes causantes de miocardiopatía hipertrófica en el resto de los enfermos con esta patología. Esta dramática realidad nos impulsó a estudiar el genoma de familias con casos de muerte súbita, utilizando las nuevas técnicas de análisis genómico diseñadas e implementadas en nuestro laboratorio durante el proyecto de desciframiento de los genomas del cáncer. El estudio genómico nos ha permitido concluir que mutaciones en el gen *FLNC*, codificante de la proteína sarcomérica filamina C, causan miocardiopatía hipertrófica en al menos ocho de las familias estudiadas. Tras descubrir estas mutaciones, el análisis de los mecanismos que subyacen al desarrollo de la enfermedad nos ha permitido demostrar que dichas mutaciones provocan la formación de agregados de filamina C en el músculo cardiaco, los cuales se acumulan con el tiempo e impiden el correcto funcionamiento del corazón. Este descubrimiento tiene importantes e inmediatas aplicaciones clínicas, ya que permitirá realizar consejo genético en las familias e identificar los portadores de mutaciones en FLNC, que serán objeto de seguimiento clínico continuo y, si es necesario, podrán beneficiarse de la implantación de un desfibrilador automático que evite el proceso que desencadena la muerte súbita en estos pacientes.

Todos estos trabajos reafirman la gran utilidad de la secuenciación de genomas para el estudio de las enfermedades hereditarias por raras que estas sean, e ilustran además acerca del enorme potencial de estas nuevas aproximaciones para profundizar en el conocimiento de la

biología humana. En estrecha conexión con esta idea, la Fundación Botín, a través de la labor de Marisol Quintero y Francisco Moreno, ha impulsado la creación de la empresa DREAMgenics, cuyo objetivo fundamental es acercar a la sociedad el lenguaje genómico y facilitar la interpretación de las claves que en él se esconden tanto en el cáncer como en cualquier otro problema biológico escrito en el código universal de las cuatro letras nucleotídicas: A, C, G y T.

Las claves del envejecimiento

Paralelamente a los estudios genómicos y proteolíticos sobre el cáncer y otras enfermedades genéticas, el trabajo de nuestro grupo en el ámbito de la senescencia celular y los síndromes progeroides nos ha ayudado a profundizar en los mecanismos moleculares asociados al envejecimiento, y en el análisis de sus estrechas conexiones con los procesos tumorales.

En los últimos años, numerosos científicos están tratando de hallar en el interior celular las claves de la longevidad y del envejecimiento. El consenso actual asume que este último proceso surgió en el curso de la evolución porque la fuerza de la selección natural decae con la edad. Por ello, el paso del tiempo puede poner de manifiesto en un individuo la actividad de ciertos genes que poseen funciones perjudiciales durante la edad posreproductiva. Una teoría complementaria postula la necesidad de una asignación óptima de recursos bioquímicos entre las funciones reproductivas y las de mantenimiento y reparación del organismo, con claro predominio de las primeras. Los organismos con vida corta favorecen las funciones reproductivas, mientras que aquellos con mayor longevidad optimizan los mecanismos de reparación del daño molecular que el paso del tiempo ocasiona en sus células y tejidos. Estos daños genéticos y epigenéticos acaban por hacerse extensivos a las proteínas codificadas en los genes alterados y determinan esa pérdida funcional progresiva y generalizada que acompaña al envejecimiento hasta que, finalmente, el organismo se rinde.

Los avances científicos en la investigación del envejecimiento desde una perspectiva genómica y molecular están siendo abrumadores. En primer lugar, los análisis de polimorfismos genéticos, y especialmente los denominados SNP, han definido variantes pro o antienvejecimiento en el genoma humano, proporcionando así una valiosa información acerca de la ecuación de la longevidad que todos portamos en nuestro genoma. Estos estudios del paisaje genómico del envejecimiento humano son solo el preámbulo de otros que ya están llamando a la puerta del conocimiento, incluyendo el análisis de genomas individuales completos en distintas etapas de la vida o la comparación detallada del genoma humano con el de otros organismos que muestran una longevidad desproporcionada en relación a la de sus parientes más próximos en el árbol evolutivo. Además, se ha avanzado notablemente en el establecimiento de conexiones moleculares entre los procesos de senescencia celular y el envejecimiento global de órganos y tejidos. Por último, se han diseccionado numerosos detalles de rutas y mecanismos bioquímicos que influyen sobre la longevidad, incluyendo la autofagia, la biología mitocondrial, la proteostasis, la regeneración celular, la dinámica telomérica o las alteraciones que acontecen en el sistema inmunológico durante el envejecimiento.

En este contexto de progreso hacia la comprensión científica de las complejidades moleculares y mecanísticas del envejecimiento, se enmarcan una serie de trabajos recientes de nuestro

grupo que comenzaron de una manera casual con la creación de los ratones deficientes en la metaloproteasa FACE-1/Zmpste24. La labor experimental en este campo del envejecimiento patológico nos llevó inicialmente al descubrimiento de nuevos genes cuyas mutaciones causan síndromes de envejecimiento acelerado en humanos, destacando entre todos ellos el ya mencionado síndrome de Néstor-Guillermo. Posteriormente, hemos podido demostrar que, en muchos casos, los defectos funcionales derivados de estas mutaciones también ocurren durante el envejecimiento normal. Todo ello nos impulsó a profundizar en el estudio de las alteraciones moleculares y celulares asociadas al paso del tiempo, un aspecto que ha quedado reflejado en un artículo titulado «Las claves del envejecimiento» («The hallmarks of aging») y publicado en la revista *Cell*. En este trabajo, realizado en colaboración con otros investigadores de la Fundación Botín, como los doctores M. Serrano y M. Blasco, se ha presentado por primera vez una visión mecanística integrada de las complejas alteraciones subyacentes al desarrollo de un proceso biológico que a todos nos alcanza y a todos nos iguala.

De acuerdo con nuestra propuesta, existen nueve denominadores comunes del proceso de envejecimiento en distintos organismos, que se pueden clasificar en tres categorías: primarios, antagonistas e integradores. Los factores primarios son aquellos que desencadenan el proceso, e incluyen la inestabilidad genómica, el acortamiento de telómeros, las alteraciones epigenéticas y la pérdida de la proteostasis. Los factores antagonistas se refieren a aquellas respuestas del organismo dirigidas a mitigar el daño producido por los factores primarios. En principio, estas respuestas son beneficiosas, pero si se exacerban o se cronifican, tal como sucede en la edad tardía, se tornan perjudiciales para el organismo. Esta categoría incluye la desregulación de los sensores del estado nutricional, la senescencia celular y la disfunción mitocondrial. Finalmente, los factores integradores son los responsables principales del fenotipo senescente e incluyen el agotamiento de las reservas de células progenitoras y la alteración en los mecanismos de comunicación intercelular. La comprensión detallada de los mecanismos moleculares subyacentes a estas nueve claves del envejecimiento permitirá diseñar futuras estrategias de intervención sobre cada una de ellas, de manera que se pueda mejorar la calidad de nuestras vidas y, eventualmente, extender la longevidad.

¿Qué nos hace humanos?

Por último, y como «nada tiene sentido en biología si no es a la luz de la evolución», hemos intentado aprovechar nuestra experiencia en el análisis genómico de los sistemas proteolíticos y de los procesos tumorales para contribuir a los proyectos Genoma de varios distinguidos pasajeros del Arca de Noé. Entre estas aventuras de exploración genómica hemos participado en la secuenciación y anotación del genoma de especies de gran simbolismo para el estudio de la evolución humana o con enorme valor como modelos en la investigación biomédica. En la galería de animales cuyos genomas y degradomas han sido objeto de atención preferente en nuestro laboratorio se encuentran la rata, el ratón, el chimpancé, el orangután, el ornitorrinco y hasta las míticas ballenas boreales, apacibles gigantes del mar helado, campeonas de la longevidad y sorprendentemente inmunes frente a enfermedades como el cáncer.

Los estudios genómicos comparativos nos han permitido extraer importantes lecciones acerca de las funciones que se han ido adquiriendo, modificando o incluso perdiendo a

medida que las distintas especies fueron evolucionando. Así, hemos podido concluir que en los distintos genomas han acontecido importantes presiones diferenciales sobre los genes de los sistemas reproductivos e inmunológicos, avalando la idea de que estos procesos constituyen mecanismos fundamentales para dirigir la evolución. Asimismo, hemos podido demostrar que los homínidos poseen cambios específicos en genes relacionados con el metabolismo de los lípidos y con las estrategias de percepción visual, abriendo nuevos caminos de estudio sobre la importancia de ambas rutas bioquímicas en nuestra propia aventura evolutiva. Finalmente, hemos podido constatar que el genoma de otros primates ha evolucionado a un ritmo más pausado que el nuestro, ya que apenas muestran huellas de la invasión genómica de ciertas secuencias repetidas que al diseminarse ampliamente por nuestro genoma tal vez nos han concedido una mayor plasticidad evolutiva y funcional.

De esta manera, genoma tras genoma, hemos intentado contribuir a la realización de una serie de proyectos dirigidos a incorporar nuevas piezas al mecano de la vida. Con cautela pero con perseverancia, nos estamos aproximando a la comprensión de alguna de las claves de la condición humana, esas que nos hacen únicos y distintos a todos los seres vivos de un planeta abrumado tras su colisión con el meteorito humano. En cualquier caso, en una era genómica donde los científicos hemos comenzado a crear vida que ya no surge de la evolución sino de la imaginación, todavía estamos lejos de encontrar respuestas precisas a una pregunta esencial: ¿qué nos hace humanos?

Mirando al futuro

Tomando prestadas unas palabras del gran poeta asturiano Ángel González, me gustaría señalar que, para que hoy pueda escribir estas líneas, «fue necesario un ancho espacio y un largo tiempo». Salí de un pueblo altoaragonés siendo apenas un niño que pretendía estudiar las claves de la vida y de las enfermedades. Tras varios años explorando las fronteras de la curiosidad en busca del conocimiento, aterricé en Asturias, donde pude abordar mis primeros proyectos centrados en el análisis de los mecanismos de progresión del cáncer con la ayuda de brillantes discípulos y extraordinarios colaboradores. El proyecto creció a medida que fuimos descubriendo nuevos genes codificantes de proteasas, cuya expresión estaba profundamente alterada en el cáncer o en otras patologías. Pacientemente, comenzamos el estudio funcional de las distintas enzimas que íbamos identificando, lo que nos permitió descifrar algunas claves sobre su contribución a la progresión tumoral. Además, y de manera sorprendente, encontramos algunos casos en los que las proteasas tenían funciones protectoras frente a la carcinogénesis. Asimismo, pudimos demostrar que algunas proteasas descubiertas inicialmente en nuestro laboratorio por sus alteraciones en el cáncer desempeñaban funciones decisivas en procesos muy diversos, incluyendo el control del envejecimiento del organismo, lo cual fue el punto de partida para nuestra introducción a la investigación sobre este proceso biológico. En cualquier caso, la complejidad subyacente a los sistemas proteolíticos fue de tal magnitud que nos obligó a introducir conceptos como el de degradoma para poner dimensiones y desarrollar procedimientos que nos permitieran analizar de manera global el universo proteolítico. A su vez, la mirada global a los genes del degradoma humano nos transportó, casi sin pretenderlo, al mundo de la comparación de genomas, al análisis de su evolución y ya muy recientemente, en un

afán de integración de todo lo aprendido en estos años, al estudio general de los genomas del cáncer.

El análisis detallado de la biografía molecular de centenares de tumores malignos nos ha llevado a concluir que cada tumor es absolutamente único en términos de sus alteraciones genómicas. Por eso, el futuro marca un camino en el que, necesariamente, habrá que buscar soluciones individuales para cada tumor de cada paciente. La investigación del cáncer inaugura así una nueva era que promete conocimiento pero que ni oculta ni minimiza el largo camino que todavía debe recorrerse. Por ello, hay que enfatizar que el desciframiento del genoma de los tumores malignos no va a representar la curación rápida y definitiva de todos los tipos de cáncer, sino la posibilidad de ofrecer a los oncólogos toda la información biológica y molecular posible acerca de cada tumor que facilite la futura instauración de los tratamientos más adecuados para cada paciente. Esta lectura global de la biografía del cáncer deberá completarse con estudios funcionales que permitan definir cuáles son las mutaciones impulsoras de la transformación maligna y cuáles son meras acompañantes del proceso. Por tanto, el problema será distinguir entre mutaciones conductoras y pasajeras en ese viaje hacia la inmortalidad que emprenden las células tumorales y cuyos itinerarios deberemos descifrar para intentar inclinar la balanza hacia el lado de la vida.

De manera semejante, es probable que la investigación genómica en el ámbito del envejecimiento permita descubrir nuevos procesos, mecanismos e interacciones génicas que nos ayuden a intervenir sobre los factores que determinan que el paso del tiempo nos vaya «volviendo menos ciertos, confusos, disolviéndonos en el aire cotidiano». Asimismo, el viaje de exploración al minúsculo mundo nuclear en el que habitan los genomas traerá cambios notables en la forma de enfrentarnos a ciertas enfermedades, incluyendo algunos raros síndromes hereditarios, que hasta ahora han pasado desapercibidos para la ciencia pero no para los pacientes o sus familias.

En suma, el extraordinario impulso alcanzado en pocos años por la biología molecular ha permitido el análisis riguroso y profundo de cuestiones esenciales acerca de la naturaleza de la vida y de las enfermedades, y ha prometido desvelar alguno de sus secretos más ocultos, incluyendo aquellos que, según Fiódor Dostoievski, no nos contamos ni a nosotros mismos. Durante casi tres décadas, dando vueltas alrededor del sol a bordo de un laboratorio asturiano y navegando entre genes y genomas, he intentado contribuir a la escritura de alguno de estos nuevos capítulos del «Libro de la Ciencia». Al mismo tiempo, he tratado de compaginar mi labor científica con una intensa actividad docente dirigida a mostrar que la ilusión por el futuro y la emoción del conocimiento en ningún sitio se perciben con tanta intensidad como en un laboratorio. Hoy, cincuenta y cinco años después de llegar al planeta Tierra en una fría mañana de invierno, miro hacia delante y me doy cuenta de la extensa *terra incognita* que todavía queda por explorar en cada uno de los campos de investigación en los que hemos trabajado. Por ello, espero tener la oportunidad de seguir disfrutando de mi cita diaria con la ciencia en esta nueva era genómica que hemos comenzado a vivir, porque aunque la investigación científica no garantiza todavía la inmortalidad ni tampoco promete la felicidad ni la armonía molecular, sigue siendo el más valioso instrumento concebido por el hombre para intentar mejorar el mundo y nuestra propia vida.

Agradecimientos

Don Pedro García Barreno me enseñó que Isaac Newton fue el último de los babilonios, el último ser humano que contempló un mundo antiguo pues, tras él, todo fue ya distinto para siempre. Bajo esas mismas premisas, Santiago Ramón y Cajal, cuya infancia y adolescencia se desarrollaron en Larrés, un pequeño lugar situado a apenas cinco kilómetros de mi pueblo natal, fue el último científico que se ganó el derecho a escribir en singular. Hoy, la ciencia es una labor colectiva que debe escribirse en plural. Gracias a mis maestros y mentores, y gracias a todos los que en algún momento me han acompañado en los últimos veintisiete años en nuestro laboratorio de la Universidad de Oviedo: G. Velasco, J. M. P. Freije, A. Fueyo, X. S. Puente, V. Quesada, A. Gutiérrez-Fernández, D. Rodríguez, A. Ramsay, A. Kwarziak, F. Rodríguez, P. M. Quirós, C. Garabaya, S. Álvarez, C. Soria, F. G. Osorio, R. Valdés, D. Álvarez, J. M. Fraile, Y. Español, A. F. Fernández, C. Bárcena, A. R. Folgueras, G. Mariño, C. G. Viloria, N. Salvador, S. Cabrera, G. R. Ordóñez, J. Cadiñanos, M. Llamazares, I. Varela, F. M. Lara, J. Uría, Y. L. Boado, M. J. García, R. Cabanillas, P. Bringas, T. Bernal, A. D. Perales, I. Díez, J. Bordallo, R. Heljasvaara, B. Fernández, R. Lorca, A. A. Ferrando, J. Espada, J. R. Peinado, H. Montes, L. M. Sánchez, A. Vázquez, M. Balbín, A. M. Pendás, I. Santamaría, E. Llano, S. Cal, A. Obaya, A. Morán, A. Ugalde, A. Moncada, M. Fanjul, M. Fernández, J. de la Rosa, A. Astudillo, J. Vega, J. Cobo, L. Menéndez, G. M. Albaiceta, A. Aguirre, V. Fanjul, X. Menéndez, K. Watanabe, M. Mittelbrunn, V. Valdespino, S. Freitas, O. Santiago, J. R. Arango y D. Campos. Gracias a todas las instituciones que nos han ayudado durante todos estos años, y muy especialmente a la Fundación Botín, por contribuir decisivamente a que nuestro laboratorio adquiriera una dimensión distinta y pudiera afrontar proyectos, como la creación de DREAMgenics, que nunca habrían sido posibles sin su apoyo.

Bibliografía representativa de la labor de nuestro grupo

R. Valdés-Mas *et al.*, «Mutations in filamin C cause a new form of familial hypertrophic cardiomyopathy», en *Nat Commun*, vol. 5, 2014, p. 5.326.

The Marmoset Genome Sequencing and Analysis Consortium, «The common marmoset genome provides insight into primate biology and evolution», en *Nat Genet*, vol. 46, 2014, pp. 850-857.

P. M. Quirós *et al.*, «ATP-dependent Lon protease controls tumor bioenergetics by reprogramming mitochondrial activity», en *Cell Rep*, vol. 8, 2014, pp. 542-556.

C. D. Robles-Espinoza *et al.*, «POT1 loss-of-function variants predispose to familial melanoma», en *Nat Genet*, vol. 46, 2014, pp. 478-481.

L. B. Gordon, F. G. Rothman, C. López-Otín y T. Misteli, «Progeria: a paradigm for translational medicine», en *Cell,* vol. 156, 2014, pp. 400-407.

M. Fanjul-Fernández *et al.*, «Cell-cell adhesion genes CTNNA2 and CTNNA3 are tumour suppressors frequently mutated in laryngeal carcinomas, en *Nat Commun*, vol. 4, 2013, p. 2.531.

L. B. Alexandrov *et al.*, «Signatures of mutational processes in human cancer», en *Nature*, vol. 500, 2013, pp. 415-21.

J. de la Rosa *et al.*, «Prelamin A causes progeria through cell-extrinsic mechanisms and prevents cancer invasion», en *Nat Commun*, vol. 4, 2013 pp. 2268.

S. I. Berndt *et al.*, «Genome-wide association study identifies multiple risk loci for chronic lymphocytic leukemia», en *Nat Genet*, vol. 45, 2013, pp. 868-876.

C. López-Otín, M. Serrano, L. Partridge, M. A. Blasco y G. Kroemer, «The hallmarks of aging», en *Cell*, vol. 153, 2013, pp. 1194-1217.

A. J. Ramsay *et al.*, «POT1 mutations cause telomere dysfunction in chronic lymphocytic leukemia» en *Nat Genet*, vol. 45, 2013, pp. 526-530.

X. S. Puente y C. López-Otín, «The evolutionary biography of chronic lymphocytic leukemia», en *Nat Genet*, vol. 44, 2013, pp. 1 236-1 242.

V. Quesada, A. J. Ramsay y C. López-Otín, «Chronic lymphocytic leukemia with SF3B1 mutation», en *New Engl J Med*, vol. 366, n.º 26, 2012, p. 2.530.

M. Kulis *et al.*, «Epigenetic analysis detects widespread gene-body DNA hypomethylation in chronic lymphocytic leukemia», en *Nat Genet*, vol. 44, 2012, pp. 1236-1242.

L. Senovilla *et al.*, «An immunosurveillance mechanism controls cancer cell ploidy», en *Science*, vol. 337, 2012, pp. 1678-1684.

V. Quesada *et al.*, «Exome sequencing identifies recurrent mutations of the splicing factor SF3B1 gene in chronic lymphocytic leukemia», en *Nat Genet*, vol. 44, 2012, pp. 47-52.

D. A. Puente *et al.*, «Whole-genome sequencing identifies recurrent mutations in chronic lymphocytic leukemia», en *Nature*, vol. 475, 2011, pp. 101-105.

F. G. Osorio *et al.*, «Splicing-directed therapy in a new mouse model of human accelerated aging», en *Science Transl Med*, vol. 3, 2011, p. 106ra107.

D. P. Locke *et al.*, «Comparative and demographic analysis of orangutan genomes», en *Nature*, vol. 469, 2011, pp. 529-533.

T. J. Hudson *et al.*, «International network of cancer genome projects», en *Nature*, vol. 464, 2010, pp. 993-998.

C. López-Otín y T. Hunter, «The regulatory crosstalk between kinases and proteases in cancer», en *Nat Rev Cancer*, vol. 10, 2010, pp. 278-292.

W. C. Warren *et al.*, «The genome of a songbird», en *Nature*, vol. 464, 2010, pp. 757-762.

L. Varela *et al.*, «Combined treatment with statins and amino-bisphosphonates extends longevity in a mouse model of human premature aging», en *Nat Med*, vol. 14, 2008, pp. 767-772.

W. C. Warren *et al.*, «Genome analysis of the platypus reveals unique signatures of evolution», en *Nature*, vol. 453, 2008, pp. 175-183.

C. López-Otín y L. M. Matrisian, «Emerging roles of proteases in tumour suppression», en *Nat Rev Cancer*, vol. 7, 2007, pp. 800-808.

I. Varela *et al.*, «Accelerated aging in mice deficient in Zmpste24 protease is linked to p53 signaling activation», en *Nature*, vol. 437, 2005, pp. 564-568.

B. Liu *et al.*, «Genomic instability in laminopathy-based premature aging», en *Nat Med*, vol. 11, 2005, pp. 780-785.

The Chimpanzee Sequencing and Analysis Consortium, «Initial sequence of the chimpanzee genome and comparison with the human genome», en *Nature*, vol. 437, 2005, pp. 69-87.

R. A. Gibbs *et al.*, «Genome sequence of the brown Norway Rat yields insights into mammalian evolution», en *Nature*, vol. 428, 2004, pp. 493-521.

M. Balbín, A. Fueyo, A. M. Tester, A. M. Pendás, A. S. Pitiot, A. Astudillo, C. M. Overall, S. D. Shapiro y C. López-Otín, «Loss of collagenase-2 confers increased skin tumor susceptibility to male mice», en *Nat Genet*, vol. 35, 2003, pp. 252-257.

X. S. Puente, L. M. Sánchez, C. M. Overall y C. López-Otín, «Human and mouse proteases: a comparative genomic approach», en *Nat Rev Genet*, vol. 4, 2003, pp. 544-558.

A. M. Pendás *et al.*, «Defective prelamin A processing and muscular and adipocyte alterations in Zmpste24 metalloproteinase deficient mice», en *Nat Genet*, vol. 31, 2002, pp. 94-99.

C. M. Overall y C. López-Otín, «Strategies for MMP inhibition in cancer: innovations for the post-trial era», en *Nat Rev Cancer*, vol. 2, 2002, pp. 657-672.

MARÍA TERESA MIRAS PORTUGAL

NOTAS BIOGRÁFICAS DE UNA SUPERVIVIENTE

9

Nací en febrero de 1948, en Carballino, una villa que por aquel entonces, y también ahora, conservaba sus 12.000 habitantes. Se encuentra en las montañas de la provincia de Orense, en el corazón de la Galicia interior. La gran escritora gallega doña Emilia Pardo Bazán, con pazo en las proximidades, ambienta en mi pueblo su novela romántica y naturalista *El cisne de Vilamorta*. Nada más alejado de la realidad, para los que nacimos y crecimos allí, nuestro pueblo era y es una especie de paraíso lacustre, con un río de orillas frondosas y numerosas cascadas. Éramos libres y nos sentíamos seguros en el inmenso parque, que más bien era un bosque con una gran variedad de especies arbóreas. De niños éramos aventureros, y esa sensación de libertad la necesito y me acompaña cada vez que comienzo algo nuevo, y en mi labor científica creativa me resulta esencial.

Mi padre, Aurelio Miras Azor, era abogado y licenciado en Filosofía y Letras. La casa estaba llena de libros, y desde pequeños nos enseñó a disfrutar de la lectura. Todavía resuena en mis oídos la frase cientos de veces repetida: «Deja eso y coge un libro». No en vano, procedía de una familia de docentes muy dados a escribir, e incluso publicó dos novelas con cierto éxito. Mi madre, Esperanza Portugal Careaga, era ama de casa y transformaba en exquisiteces cualquier producto comestible que llegaba a sus manos, eran famosas sus empanadas y sus flanes. Lo de optimizar y disfrutar del laboratorio lo he heredado de su genética. También la afición por las flores y plantas en general. Teníamos una hermosa finca a la salida del pueblo, donde mi madre cuidaba todo tipo de flores y mi padre pedía por catálogo las nuevas variedades de gladiolos, claveles, azucenas y todo lo inimaginable que podía ser plantado. Aun ahora, cuando veo algunas flores y ciertos árboles, instintivamente los comparo con los de mi infancia. La diferencia es que ahora los planto yo, sobre todo para que coman los pájaros en invierno. Mis abuelos maternos, a los que estuve muy unida, procedían de familias de empresarios y se dedicaban a la industria del curtido. Todavía conservo el acto reflejo de oler los productos elaborados con piel y el olor a cuero bien procesado me sigue emocionando.

De mis andanzas y excursiones por los alrededores del pueblo coleccionaba todo tipo de plantas y bichos, sobre todo insectos, pero la fascinación por lo desconocido vino de golpe. Tenía unos ocho años cuando mi padre, al volver de un viaje a Madrid, me trajo un tesoro, un libro titulado *El desierto viviente,* del que mucho después me enteré que era la versión escrita del primer documental filmado sobre la naturaleza. Todavía conservo el libro de la edición de 1955. Mi vocación quedaba definida, sería «descubridora». Todavía imagino a la valiente avispa contra la malvada tarántula. Todavía pienso que los desiertos solamente existen si no nos atrevemos a mirarlos de otro modo.

Realicé el bachillerato elemental en el colegio de las Madres Franciscanas de Carballino hasta cuarto curso. Es justo al comienzo de esa etapa, en 1959, cuando Ochoa y Kornberg

recibieron el Premio Nobel por sus estudios de los mecanismos de la síntesis biológica de los ácidos nucleicos. Tuve la inmensa suerte de ser alumna de doña Luz, quien nos daba clase de Literatura y de Historia. Fue por entonces cuando Yuri Gagarin, a bordo de la nave *Vostok*, realizó la primera salida al espacio en 1961. Gracias a doña Luz nos sentíamos protagonistas de la historia pasada y de la que estaba por venir, sin olvidar que nuestros poetas habían volcado en sus versos los sentimientos que seguirían emocionando a los lectores del futuro. De las obras que debíamos leer, teníamos que seleccionar la parte del texto que más nos había llamado la atención y describir lo que interpretábamos, imaginábamos a partir del contexto o fabulábamos en situaciones diversas. Creo que esa formación me ayudó a interpretar y analizar posteriormente las publicaciones científicas.

Cuando tenía catorce años me fui a cursar el bachillerato superior y preuniversitario a Santiago de Compostela. Era alumna interna en el colegio de la Compañía de María y, acostumbrada a la naturaleza y libertad de mi pueblo, no me resultó fácil la prisión. Me consoló que la biblioteca estuviera bien surtida y aprendí que ser libre es una cuestión del pensamiento. En contrapartida, me sorprendió que todas las monjas y profesoras seglares que nos daban clase tuvieran estudios de licenciatura e incluso doctorados. Se seguía el espíritu de la fundadora, Juana de Lestonnac, que era miembro de la nobleza de Francia, sobrina del célebre filósofo Michel de Montaigne, viuda y madre de cinco hijos. Fue la primera orden religiosa aprobada por la Iglesia que se dedicaba a la educación de las mujeres. El ambiente era racional, sin ñoñerías; el edificio histórico del colegio, inmenso y todo de piedra, era friísimo. Las clases de Química y las de Matemáticas eran magníficas, y me gustaba el lenguaje preciso y el conocimiento al que daban acceso; siempre estaré agradecida y recordaré a la madre Prada, que dejó su cátedra de instituto y se hizo monja matemática. Mientras tanto, fuera de aquellos muros, en 1962 no le daban a Rosalind Franklin el Premio Nobel junto con Watson y Crick por el descubrimiento de la estructura molecular de los ácidos desoxirribonucleicos; en 1963 salía al espacio la primera mujer, Valentina Tereshkova; en 1964 le daban el Premio Nobel a una mujer madre de familia, Dorothy Crowfoot Hodgkin, por elucidar estructuras bioquímicas extremadamente complejas mediante difracción con rayos X; sin olvidar que habían asesinado a Kennedy.

Licenciatura en Farmacia, entre Santiago y Madrid

En octubre de 1965 comienzo a estudiar en la Facultad de Farmacia de Santiago de Compostela, donde cursaría los tres primeros años de la licenciatura. Por aquel entonces tenía su sede en el Palacio de Fonseca. Allí recibí mi bautismo universitario y quedé deslumbrada nada más entrar por la belleza del claustro de estilo plateresco tallado en granito gris. Dos meses más tarde reciben el Premio Nobel François Jacob, André Lwoff y Jacques Monod. Era el primer año que se impartía el curso selectivo en la Facultad de Farmacia y los profesores aún desconocían el tipo de alumnado que tendrían, solo sabían que seríamos pocos. Fue una época de gran dinamismo y todos estábamos llenos de energía, éramos capaces de hacer múltiples actividades tanto académicas como lúdicas y deportivas.

Al comienzo del año académico se hacían exámenes para los candidatos a alumnos internos. Tuve suerte y conseguí entrar en el de Química Inorgánica, la cátedra que dirigía don Jaime

González Carreró; la verdad es que había pocos candidatos. Lo bueno fue que, una semana después de comenzar el curso, yo ya estaba con mi bata en el laboratorio. Tenía don Jaime un gran sentido del humor y explicaba el programa a buen nivel y con gancho, combinándolo de vez en cuando con la obtención del espejo de plata veneciano y otras recetas de naturaleza alquimista que nos dejaban un poco perplejos. Tenía muchos candidatos para realizar la tesis doctoral, ya que don Jaime exigía trabajo e ideas innovadoras de los que estaban en su entorno. Sus discípulos se colocaban en buenos laboratorios nacionales e internacionales, incluidos los de productos cosméticos, entre ellos en la casa francesa Vichy. No fui consciente de su importancia hasta muchos años más tarde, cuando en una cena con el agregado cultural de la embajada francesa en Madrid empezamos a hablar de Santiago de Compostela y me preguntó por don Jaime. Nunca habría imaginado que tenía tantas patentes en productos cosméticos y que había sido uno de los pioneros en utilizar siliconas en las cremas de manos. Creo que esa era la razón por la que no dejaba que las alumnas manejáramos las garrafas de ácido clorhídrico concentrado, pues los gases podían estropearnos la piel.

Ser un grupo reducido tenía la ventaja de que hacíamos prácticas todos los días y durante muchas horas, sin importar que centrifugáramos manualmente o que midiéramos la dureza del agua con jabón; los conceptos estaban claros, y las limitaciones impuestas por la escasez siempre tenían una vuelta de imaginación. Don Luis Josafat Alias era el catedrático de Geología y Edafología de primer curso, y conseguía que soñáramos con el microscopio petrográfico para ver con luz polarizada los más diversos minerales. Al salir de clase teórica teníamos dos horas de prácticas. No había sistema de cristalización que se nos resistiera, incluido el triclínico, ni cristal que no reconociéramos, puesto que el examen era delante del microscopio y las redes de cristalización. Don Luis se fue pronto de Santiago a la Universidad de Murcia, allí lo encontré pasados muchos años. A él se deben el estudio edafológico de los suelos de Murcia y Andalucía que posteriormente sirvieron para optimizar el rendimiento del suelo en los invernaderos. Don Ernesto Viéitez era el catedrático de Biología y Fisiopatología Vegetal, y además era el director de la Misión Biológica de Galicia que originariamente fue fundada por la Junta para Ampliación de Estudios en 1921. Dedicó gran parte de su actividad científica a estudiar las enfermedades del castaño y a buscar e identificar castaños nativos resistentes y nuevos híbridos. Fue premiado por el Departamento de Agricultura de Estados Unidos en 1957, por lo que a ojos del alumnado era casi mítico. En la época en la que yo era estudiante, su laboratorio de la facultad estaba centrado en el aislamiento e identificación de las hormonas vegetales asociadas con la formación de raíces y callo en los esquejes leñosos. En las clases prácticas vi por vez primera los cromosomas del maíz, con tinciones que hacíamos de los ápices de las semillas en germinación. También sufríamos por las pobres hojas de la vid cuando veíamos al microscopio cómo eran colonizadas por las hifas del hongo *Plasmopara viticola,* que producía el temible mildiu. Nos hizo sentir dolor y pesar por cualquier planta enferma o maltratada, como si fuera un miembro de la familia.

Don Pablo Sanz Pedrero, el catedrático de Física, era de imponente presencia y sonoridad en la voz y asistíamos a sus clases con un temor reverencial. Lo que no me podía imaginar era que los jóvenes doctorandos de la cátedra de Química, donde yo estaba de alumna interna, habían planeado llevar a cabo una novatada científica. Según ellos, actualmente

directores de los servicios de farmacia hospitalaria en relevantes hospitales españoles, se habían quedado escasos de óxido de deuterio, D2O, también conocido vulgarmente como «agua pesada». Como estaban muy ocupados, me pidieron que por favor me acercara a la cátedra de Física, a pedir un litro del susodicho líquido. Alegre y confiada, me acerqué a realizar el encargo. Me recibió el joven profesor adjunto, Miñones, quien muy amablemente me dijo que por respeto y buen proceder debería solicitarla al nuevo catedrático, don Pablo. Con absoluto desparpajo y naturalidad procedí a pedir el óxido de deuterio. Don Pablo pasó de la sonrisa amable del recibimiento, pues era una alumna respetuosa en clase, al más absoluto de los enfados, diciéndome entre otras cosas que «los estudiantes de hoy día ya no eran como los de antes, que no teníamos nivel para estar en una facultad y que había una falta de respeto total hacia el trabajo del profesor». Era el año 1965, yo no entendía nada y, entre la cara de asombro que debí de poner y la media sonrisa del profesor Miñones, don Pablo se dio cuenta del pardillo o pardilla que le habían enviado; la novatada había sido doble y él la segunda víctima. Me dijo: «Váyase, váyase», y una vez entornada la puerta del despacho escuche al otro lado las carcajadas de ambos. Siete años más tarde, en 1972, realizando mi tesis doctoral en Estrasburgo, volví a encontrarme con el óxido de deuterio, esta vez para identificar la presencia de una histidina reactiva en el centro catalítico de la enzima de síntesis del neurotransmisor noradrenalina, la dopamina β-hidroxilasa, ya que las cinéticas de ionización se desplazaban en 0,5 unidades de pH al ser realizadas en agua pesada. Siempre he constatado que la experiencia se nutre con más intensidad de los errores y meteduras de pata que de los éxitos, y la angustia del agua pesada la tenía marcada a fuego.

Pasado el primer curso selectivo la presión era la misma pero ya conocíamos los tiempos y los ritmos, algunos de los profesores eran del año anterior y nuevas materias enriquecían el programa. Lo que sufrió un cambio profundo fue el panorama humano, llegaron estudiantes de todos los rincones de España, entre ellos los que se desplazaban por las distintas facultades de Farmacia buscando en peregrinaje las asignaturas más fáciles. Otros muchos procedían de países árabes (sirios, libaneses, iraquíes, jordanos y palestinos, en perfecta armonía); los hispanoamericanos eran muy numerosos y un gran número de ellos y ellas se quedó definitivamente entre nosotros. En aquel ambiente multicultural, multiétnico y universal de Santiago, los aspectos políticos de la dictadura sonaban a algo marchito y los extranjeros ni se enteraban.

Entre los nuevos profesores de segundo curso teníamos al profesor de Botánica, Matías Mayor, recién llegado de la meseta castellana. Estaba emocionado ante el verdor fluorescente de la ciudad y le asombraba que los musgos, helechos y plantas con flores crecieran colonizando las paredes de los edificios, como si alguien se hubiera entretenido en diseñar un jardín vertical. Su fascinación por la flora gallega nos obligó a un continuado ejercicio de excursiones botánicas por todos los biotopos, donde recogíamos los ejemplares para el herbario, además de resfriados monumentales por las mojaduras. Con una lupa, pinzas, el libro de Gaston Bonnier y un anexo de flora específica de Galicia procedíamos a la clasificación de los especímenes recolectados. Pasábamos en el laboratorio muchas horas preparando el herbario, pero daban su fruto, aún ahora cuando paseo por el campo voy recordando sus nombres, sobre todo los de las plantas venenosas.

El tercer curso, mi último año en Santiago, trajo la novedad de la Química Orgánica, impartida por don José María Montañés, que resbaló un día lluvioso y se rompió la tibia y el peroné derecho. Eso no supuso un obstáculo para que saliera de su casa dos horas antes y viniera andando con muletas y la pierna enyesada a dar su clase de las nueve en punto, pasando lista a continuación. Hablaba apasionadamente del «arte de la química orgánica», se dedicaba a la síntesis de cetonas aromática con un olor peculiar y a derivados de aminas biógenas con actividades vasculares. Junto a sus discípulos sintetizó numerosos compuestos con actividades específicas para los diversos receptores de serotonina, y su escuela sigue funcionando hoy en día con gran productividad. Procedía de la escuela de Antonio Madinaveitia, que tuvo que exiliarse y fundó en México el Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). En aquella época todavía era frecuente la presencia de excepcionales profesores, represaliados, que eran enviados a la Universidad de Santiago, a la que aportaron una gran calidad y mente abierta.

La otra novedad del tercer curso fueron las clases de Microbiología impartidas por don Benito Regueiro, también conocido como «San Benito» por su bondad calificando, y la profesora adjunta Ramona Vaamonde, Ramonita. Siempre recordaré sus prácticas: la caracterización de bacterias patógenas, entre ellas el *Mycobacterium tuberculosis*, se realizaba con materiales traídos del hospital. Hoy en día en ningún laboratorio estaría admitido este proceder, pero en el curso 1967-68, y en Galicia, nos curtían a los futuros profesionales en todos los frentes. Otras prácticas más amables eran las de fabricación de yogures y otros fermentados lácteos. Por entonces no había costumbre de tomarlos, fue la primera vez en mi vida que probé el yogur; algunos de mis compañeros montaron posteriormente fábricas para producirlos.

Durante estos tres primeros años de licenciatura en Santiago, como era alta de estatura, me inscribieron en el equipo de balonmano de Fonseca, pero pronto me di cuenta de que el deporte de competición no era lo mío. Mejor suerte tuve con el grupo de teatro universitario. Llegué a representar a Eugene O'Neill en una obra titulada *The Dreamy Kid*, haciendo de Irene, y otra de Antón Chéjov, donde era la joven Natasha de *La petición de mano*. Nos aplaudían muchísimo, y conseguimos un lleno absoluto. La razón del éxito residía en que teníamos un público volcado y entusiasta que eran nuestros sufridos compañeros de curso.

Mi tiempo en Santiago estaba a punto de acabar. Mi novio de toda la vida, Fernando Varela, había aprobado la cátedra de instituto de Matemáticas y estaba haciendo su tesis doctoral en la Universidad Complutense. Decidimos casarnos antes de finalizar el verano y comenzar el nuevo curso juntos en Madrid.

El curso 1968-69, ya en la Universidad Complutense, fue diametralmente opuesto a Santiago. Me impresionaron las clases impartidas en enormes anfiteatros, eran multitudinarias y daban la sensación de lejanía y despersonalización del alumno. Las prácticas eran menos abundantes y muy rígidas en su diseño y realización. El profesorado tenía mucha más edad y se respiraba un cierto dogmatismo conformista. La posibilidad de compaginar el estudio con otras actividades culturales era muy difícil si se quería obtener un buen expediente. Podría decir que en Madrid el desarrollo de las inquietudes personales era más limitado. En contrapartida descubrí la importancia de la bioquímica, y recuerdo las clases tan orga-

nizadas y precisas de don Ángel Santos Ruiz. Sin duda, la bioquímica ofrecía una nueva perspectiva para comprender los procesos esenciales de los seres vivos, y bastaba mirar las áreas de trabajo de los premios Nobel para darse cuenta de su potencial de cara al futuro. Había tomado la decisión de dedicarme a la investigación en bioquímica, y don Ángel me aceptó muy generosamente en su laboratorio. Por aquel entonces era un centro mixto consejo-universidad, el Centro Alfonso X el Sabio, con una excelente biblioteca, equipamiento científico de lo mejor de la época y muchos investigadores tan ilusionados como yo misma. Finalicé la licenciatura de Farmacia con Premio Extraordinario en junio de 1970 y Premio Nacional Fin de Carrera. Estas distinciones me permitieron solicitar con éxito becas para la realización de la tesis doctoral, pero ese es otro capítulo.

Los años de doctorado

Finalizada la licenciatura, el curso siguiente, 1970-71, comencé los experimentos sobre la enzima glutamina sintetasa, de gran importancia en metabolismo cerebral. Este primer contacto me brindó la posibilidad de conocer la gran generosidad y conocimiento de la investigadora Pilar González, que dirigió mis primeros pasos, y la brillantez y afecto del profesor Ángel Giménez Solves, un excepcional docente. Este primer año me matriculé con éxito en todas las asignaturas de doctorado que normalmente deberían cursarse en dos años pero que tenía forzosamente que realizar en uno. La razón era que mi marido había sido aceptado en el Instituto de Investigación de Matemática Avanzada de Estrasburgo, el famoso IRMA, que tantas Medallas Field ha cosechado a lo largo de los años. Yo tenía que conseguir irme a Estrasburgo y a un buen centro de investigación. Escribí a varios de ellos y la respuesta fue afirmativa en todos los casos, posiblemente debido a mi expediente académico. Algunos de los directores se sorprendían de que mi expediente recogiera las calificaciones de las asignaturas de Religión y Formación del Espíritu Nacional. Pedí como gran favor a la responsable de secretaria de la Facultad de Farmacia de Madrid que omitieran las famosas «marías» de mi expediente académico. Estudié las publicaciones de los centros que me habían aceptado y me decanté por el Centro de Neuroquímica por dos razones: la primera, porque me atraía la neurociencia, y la segunda, por los científicos de excepcional calidad que allí trabajaban.

Llegué a Estrasburgo en octubre de 1971; mi hijo Fernando tenía unos pocos meses, y la búsqueda de guardería fue una odisea que por sí sola merecería una gran obra, pero lo dejo para otra ocasión. Me habían concedido una beca del gobierno francés, que me daba derecho a asistencia médica y a otros beneficios, aunque la cantidad económica era muy escasa. Esta beca era en realidad para el laboratorio receptor, ya que percibía una cantidad considerable para cubrir mis gastos de investigación. Algunos meses más tarde, y cuando ya no lo esperaba, me concedieron la beca del Ministerio de Educación de España para realizar la tesis doctoral en el extranjero. Tardaron en hacerla efectiva casi un año y tenía que ir a cobrarla a París. Mi último año y curso en Estrasburgo, 1974-75, disfruté de una beca de la Fundacion Juan March realmente generosa para aquellos tiempos.

El director del Centro de Neuroquímica en aquella época era el prestigioso profesor Paul Mandel. Años antes había descubierto que a muchos ARN nucleares se les añadía una cola

de polyA y las ventajas que aportaban para la síntesis proteica. Otra línea de trabajo que codirigía con Noelle Virmaux era sobre la composición proteica y presencia de metabolitos en distintas estructuras oculares, siendo los primeros en descubrir que el GMPc era abundante en la retina y que sus niveles dependían de la estimulación lumínica. El estudio de los diferentes tipos de epilepsias hereditarias y los modelos animales para generar el *status epilepticus* tenía una connotación especial por razones familiares, y el ensayo de diferentes fármacos se realizaba en colaboración con los laboratorios Sandoz de Basilea, ensayándose las primeras benzodiacepinas y el valproato. Aunque había muchos investigadores dedicados al tema, su hijo Jean-Louis Mandel, posteriormente profesor del Collège de France, como lo fue su padre, era uno de los más activos y creó el gran laboratorio de referencia mundial en el área.

Entre sus discípulos, trabajando en la síntesis de los ácidos nucleicos y el control de su expresión, estaba el profesor Pierre Chambon; sus primeros artículos sobre la ARN polimerasa datan de 1961 y colaboraron hasta 1970. Cuando yo llegué, Pierre Chambon tenía un impresionante laboratorio independiente y era extremadamente exigente con sus colaboradores. En los seminarios del centro, los que impartía el grupo de Chambon, eran seguidos con especial interés. Acababan de descubrir en 1970 que la alfa-amanitina era un inhibidor específico para una de las dos ARN polimerasas dependientes de ADN que se conocían en aquel momento en eucariotas. Actualmente la conocemos como ARN polimerasa II, la que sintetiza los ARN mensajeros, los microARN y otros, y por cuya estructura tridimensional le han dado el Premio Nobel de Química a Roger Kornberg en 2006. El primer seminario de su grupo al que asistí fue a comienzos de 1972, donde presentaban las evidencias de que en el núcleo eucariota había por lo menos tres ARN polimerasas dependientes de ADN, publicadas en los años siguientes. Quizá, lo que más me impactó fueron, en 1974, las primeras micrografías electrónicas mostrando la hibridación de los ARN mensajeros con los grandes fragmentos de ADN del oviducto de gallina. Estos estudios de lo que conocemos hoy en día como exones, intrones y control de la expresión de genes fueron publicados mucho más tarde, incluso cuando yo ya estaba de vuelta en España. Siempre pensé que había tenido el privilegio de asistir a un hecho histórico y al nacimiento de una nueva ciencia muy poderosa.

Comencé mi tesis doctoral en el grupo de Gerard Mack, especializado en neurotransmisión adrenérgica y los problemas asociados con diversos modelos de epilepsia y de comportamiento. Pronto me adjudicaron un tema de trabajo, el estudio de la enzima que sintetiza noradrenalina a partir de dopamina, la dopamina-β-hidroxilasa, o DβH, ampliamente utilizada para diferenciar las neuronas dopaminérgicas de las noradrenérgicas en los mapas cerebrales. Esta enzima y sus connotaciones me acompañarían durante mucho tiempo. Empecé por poner a punto las más diversas técnicas para abordar la enzima desde todos los puntos de vista. Los comienzos fueron difíciles. Además, puesto que quería realizar la tesis, tenía que pasar la prueba de fuego de dejarme totalmente sola. Después de unos meses, cuando vieron que me desenvolvía bien y había desarrollado y puesto a punto técnicas, incluida una columna de afinidad para purificar la enzima, gracias a mis conocimientos de química orgánica y también a mi «osadía», ya fui considerada digna de colaboración e intercambio. Así fue como aprendí a pelear para ser una superviviente. De aquella época conservo amistades y colaboraciones con grandes científicos, como Jean Zwiller, Max Recassens, Eliane Kempf, Christo Goridis, Giorgio Gombos, Jean-Pierre Zanetta y otros muchos, puesto que el Centro

de Neuroquímica era uno de los más internacionales de Francia, donde investigadores de todo el mundo realizaban sus estancias sabáticas. Además de los seminarios del centro, las reuniones de grupo se efectuaban los martes a las seis de la tarde en casa del profesor Mandel; a esa hora, desde octubre hasta marzo, en Estrasburgo es de noche, y las reuniones duraban unas dos horas. En la mesa había siempre dátiles de Israel y de vez en cuando chocolate belga. Los resultados se exponían en un contexto de conocimiento previo, destacando lo que era novedoso y adónde nos gustaría llegar. Casi siempre se oía atenuado el piano en el piso superior de la casa, todos en la familia eran consumados músicos, y él era violinista.

La colaboración más fructífera se estableció con Dominique Aunis. Durante mi estancia publicamos catorce artículos en muy buenas revistas, además de seguir colaborando y publicando una vez en España. Uno de los primeros artículos hacía referencia a la presencia de residuos de histidina en el centro catalítico de la enzima haciendo uso del isotopo de deuterio en el efecto del pH sobre la actividad enzimática. Es ahí cuando me acordé de don Pablo y el agua pesada. Posteriormente fuimos capaces de purificar la enzima almacenada en gránulos de secreción en un único paso mediante afinidad con lectinas, ya que era una glucoproteína con manosa terminal. El mundo de las lectinas y la glucobiología fue otra de las sorpresas que me permitió analizar las modificaciones de la enzima dopamina-β-hidroxilasa, DβH, una vez liberada de los gránulos de secreción y presente en el plasma sanguíneo, aspecto que habría de llevar a su fin mucho más tarde y ya en la Universidad de Murcia. El trabajo con esta enzima me permitió presentar la tesis doctoral en 1975. Descubrí que los niveles de la enzima en el plasma humano son más abundantes que en cualquier otro mamífero, lo que sirvió para medirla en todos los investigadores del grupo Mack y fabular sobre su interpretación. El profesor Mandel, que tenía una gran visión comercial, logró convencer a los encargados del avión supersónico Concorde de estudiar los efectos de este sobre el estrés humano. Sugirió que era necesario medir el efecto sobre parámetros de actividad simpática. Los parámetros sugeridos no eran más que los niveles de noradrenalina y los de su enzima de síntesis en plasma sanguíneo, la DβH. Dicho y hecho, tuvimos que poner a punto la técnica para medir la enzima en sangre de cerdos sometidos a los ultrasonidos del avión supersónico. Los beneficios para el laboratorio fueron al parecer sustanciosos, y el chocolate belga era más abundante en las reuniones semanales.

En mayo de 1973 se celebró en Estrasburgo el tercer simposio internacional de las catecolaminas, organizado por Paul Mandel, y el libro de resúmenes y artículos se publicó bajo el título de *Frontiers in Catecholamine Research*. Fue mi primer congreso y mi primer póster. Estábamos fascinados con los suecos, ya que habían traído las diapositivas reveladas en azul y era toda una novedad, ¡quién lo recuerda hoy en día! Asistimos a las presentaciones de los mapas cerebrales de la distribución de catecolaminas: dopaminérgico tan recogido y preciso, noradrenérgico y serotoninérgico con distribuciones mucho más amplias, cuyos autores habían sido Annica Dahlström, Tomas Hökfelt y Kjell Fuxe. Sus presentaciones fueron uno de los puntos álgidos del congreso y siguen estando vigentes en los libros de texto.

Los grandes invitados al congreso fueron Ulf von Euler y Julius Axelrod, premios Nobel en 1970 por el almacenamiento, liberación e inactivación de las catecolaminas; Roger Guillemin, que trabajaba sobre neuropéptidos y su secreción, además era francés y curiosamente recibió el Nobel tres años más tarde, en 1976; Solomon Snyder, que presentó los

mecanismos de acción de drogas psicoactivas y posteriormente descubriría los receptores de opiáceos; y, finalmente, entre otros muchos, estaban Arvid Carlsson y Paul Greengard, que recibirían el Nobel en el año 2000 y que contribuirían a comprender las bases moleculares y celulares del párkinson y su tratamiento.

La organización de reuniones científicas de alto nivel pero con un número reducido de participantes era algo muy frecuente. Recuerdo las del Mont Sainte-Odile, en pleno corazón de Alsacia, donde era posible contactar con los mejores de cada especialidad y saber dónde se encontraban las fronteras del conocimiento. Allí pude hablar ampliamente con Rita Levi-Montalcini, Viktor Hamburger y otros muchos. Todos disfrutaban constatando la cantidad de gente joven ilusionada con la ciencia.

Las reuniones de los matemáticos a las que asistía mi marido eran totalmente diferentes, eran más familiares y nosotros llevábamos a nuestros hijos. Solían celebrarse en los típicos chalés de montaña para las vacaciones escolares de nieve, eran lugares hermosísimos y muy austeros. Los organizaba el IRMA, cuyo director era el profesor Georges Reeb, famoso por fundar la teoría topológica de las foliaciones, un alsaciano generoso que nos asimiló como miembros de su familia. Las reuniones se celebraban generalmente a partir de mayo y siempre contaban con los grandes del campo, allí estaban Alexander Grothendieck, Jean Dieudonné o Réné Thon, creador de la teoría de catástrofes. Se hacían grandes caminatas por los Vosgos y al final de la tarde siempre había música. Los contactos entre un lado y otro del Rin entre matemáticos eran muy fluidos, la diferencia con Alemania era que estaban financiados por la empresa Volkswagen y la austeridad era escasa.

La ciencia avanzaba, mi tesis también, y la vida seguía su curso. En febrero de 1973 nació mi segundo hijo, Alberto. Mi marido tenía muy avanzada su tesis de Estado, que le abrió todas las puertas para optar a puestos de profesor o investigador y fue contratado como investigador de plantilla del Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS), en el Institut de Recherche Mathématique Avancée (IRMA) de Estrasburgo.

En julio de 1975 defendí mi tesis doctoral en la Universidad de Estrasburgo. Se titulaba *La dopamine-β-hydroxilase (EC 1.14.17.1) du serum humain*, que obtuvo la calificación de magna cum laude, y felicitaciones del jurado. Este era internacional y, además de mi director, el profesor Paul Mandel, y el profesor Gerard Mack, habían venido otros dos miembros. Uno era el profesor de Farmacología de la Université René Descartes de París, Jean-Charles Schwartz, miembro de la Academia de Ciencias del Instituto de Francia y reconocido mundialmente por sus descubrimientos en farmacología de receptores de serotonina. El otro miembro era el profesor Merton Sandler, de la Universidad de Londres, que fue un pionero en el desarrollo de la Psiquiatría Biológica y la Psicofarmacología, relacionando las catecolaminas y la serotonina con la depresión y la migraña. Entre sus libros científicos, quizá el más difundido sea *Design of Enzyme Inhibitors as Drugs*, editado conjuntamente con H. John Smith, y que ha permitido una mejor comprensión de muchos fármacos, su desarrollo y mejoras, siendo reeditado en múltiples ocasiones. Se puede considerar un libro de culto que he utilizado ampliamente en el desarrollo de mi labor docente.

Dominique Aunis, con quien había colaborado durante toda mi estancia en Estrasburgo, es nombrado en 1983 director de Investigación, publicando numerosos artículos sobre los mecanismos de exocitosis y su regulación por proteínas G y citoesqueleto. En 1991 crea su propia unidad de investigación en el Institut National de la Santé et Recherche Médicale (INSERM), denominada Biologie de la Communication Cellulaire, y abre nuevos campos a la investigación en drogodependencia, neuroinmunidad y patologías asociadas a priones. Fue posteriormente director del Instituto de Neurociencias de Estrasburgo y presidente de la Sociedad de Neurociencias de Francia. Seguiríamos colaborando después de volver a España, con la ayuda de proyectos bilaterales y europeos.

En septiembre de 1975, junto a mi marido, tomamos una difícil decisión, la de volver a España. Nuestros amigos de matemáticas y de neurociencias no entendían que dejáramos nuestros puestos para volver a un país, según todos, incierto. El profesor Mandel y el profesor Reeb nos ofrecieron la posibilidad de volver en cualquier momento si veíamos que existía peligro. Tenían razón, los fusilamientos del 27 de septiembre, veinte días después de volver, nos dejaron sobrecogidos.

La vuelta a España: de la Facultad de Farmacia de la UCM a la de Medicina de la UAM

Volví a Madrid al Departamento de Bioquímica de la Facultad de Farmacia con un contrato del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) que había conseguido con mucho esfuerzo don Ángel Santos, la duración era de un año, el curso 1975-76. Los dos años siguientes tuve una plaza de ayudante de clases prácticas. Mi marido era profesor agregado de Topología Diferencial en la Facultad de Ciencias de la Universidad Autónoma de Madrid.

Yo seguía publicando con el grupo de Estrasburgo y además tenía un pequeño pero excepcional grupo de jóvenes que hicieron la tesina de licenciatura conmigo, entre ellos Antonio Jordá, José Sánchez Prieto y Francisco Vara, con quien publiqué desde el primer año de mi vuelta al país. En el departamento, la gran mayoría de los investigadores había vivido estancias en el extranjero, o estaban a punto de irse, y las discusiones científicas y los seminarios semanales eran muy enriquecedores. Pocos departamentos en el país disfrutaban de esa vitalidad, y muchos de mis compañeros fueron y son actualmente catedráticos y profesores de investigación, entre ellos José Miguel Ortiz Melón, Sebastián Cerdán y Manuel López Pérez.

En aquel momento, el sistema de permanencia en la universidad requería realizar una oposición, que en el área de bioquímica eran muy competitivas. La exposición del currículo investigador y docente era un punto clave, pero era necesario tener un programa bien diseñado y poder explicar cada uno de los temas, como si fuera una lección magistral. Se sacaban diez bolas numeradas y el tribunal elegía una de ellas para que el opositor la desarrollara. Todos conocíamos bien el programa, lo que obligaba a un gran esfuerzo y dedicación. Irremediablemente, la investigación, por puntera y excelente que fuera, quedaba aparcada. En alguna de esas oposiciones coincidí con excepcionales docentes e investigadores, entre ellos Joan Guinovart, José María Medina, Juan Carmelo Gómez, Natalia López Moratalla, etcétera.

Obtuve la plaza de profesora titular en 1978, tuve la suerte de poder optar a una plaza en el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid, dirigido por don Alberto Sols, y permanecí en él durante cuatro cursos, desde 1978-79 hasta 1981-82. Los alumnos eran de gran nivel, dada la selección y exigencia. Era una facultad nueva y al departamento se había incorporado el gran plantel de investigadores del Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), que se dedicaba preferentemente a la enzimología. Allí estaban la entrañable Gertrudis de la Fuente, Carlos Gancedo y Juana María Sempere, Juan Emilio Feliu y Lisardo Boscá, entre otros muchos, todos ellos dedicados al estudio del metabolismo glucídico. Era la época de la búsqueda de isoenzimas, su relación tisular con situaciones patológicas y cómo diferenciarlas claramente para su empleo en diagnóstico. Con líneas diferentes de investigación estaban, entre otros, Antonio Sillero, María Antonia Günther-Sillero y Roberto Parrilla, con quien colaboraría posteriormente. El espíritu del centro se parecía mucho al de Estrasburgo, los seminarios eran excelentes, los profesores invitados muy numerosos y siempre había gente nueva que colaboraba. Era un centro abierto a todas las corrientes, permeable y difusor de todo el conocimiento que allí llegaba. Uno de los investigadores invitados que más me impresionó por su amplio conocimiento y cultura, además de por una ironía finísima, fue el profesor Luis Leloir. Le habían concedido el Premio Nobel de química en 1971 por las formas activas de los azúcares, siendo la UDP-glucosa la primera descubierta. Me acordé de él treinta años más tarde, en 2001, cuando la UDP-glucosa resultó ser el agonista fisiológico del receptor de nucleótidos P2Y14, el último descubierto hasta el momento.

El Departamento de Bioquímica era deudor de la personalidad del profesor Sols, curtido en muchos foros internacionales y que aspiraba a que la ciencia española rompiera fronteras. Fue el creador e impulsor de la Sociedad Española de Bioquímica (SEB) y de nuestra adhesión a la Federación Europea de Sociedades de Bioquímica (FEBS) y a la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (IUBMB). Su espíritu era universal y admirable su capacidad de descomponer problemas complejos en preguntas sencillas que pudieran ser abordadas experimentalmente. Me sentí especialmente honrada cuando la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (SEBBM), muchos años más tarde, me concedió la máxima distinción, la Medalla Alberto Sols, en el año 2005. Aprendí mucho de su forma de analizar las cosas y de su sentido del humor, que denotaba una excepcional inteligencia. En 1954 publicó la especificidad de sustratos de la hexoquinasa cerebral, entre ellos la 2-desoxiglucosa, que una vez fosforilada no podía proseguir su metabolismo y se acumulaba en las células. Casi treinta años más tarde, la 2-desoxiglucosa y la [18F]-2-desoxi-2-fluoro-D-glucosa se utilizaron para los primeros estudios in vivo del metabolismo y función cerebral mediante tomografía por emisión de positrones (TEP). Curiosamente, el golpe de Estado del 23 de febrero de 1981 se produce en las mismas fechas en las que aparecen los primeros artículos sobre la TEP y las hipotéticas posibilidades que tendría la técnica. Menos mal que el primero falló y que la segunda se ha convertido en una poderosa herramienta de estudio y diagnóstico.

En aquel entorno di un giro total a mi línea de investigación, las catecolaminas eran un área muy concurrida y necesitaba encontrar mi propio camino en un campo que estuviera por entonces poco transitado. Después de un par de artículos sobre el metabolismo glucídico en neuronas, producto del ambiente en colaboración con Juan Emilio Feliu,

Rosa Sagarra y Ana Millaruelo, que presentaría su tesis sobre el tema, me decanté por estudiar otros componentes de las vesículas neurosecretoras. Entre estos componentes estaban los nucleótidos ATP y ADP. La liberación del contenido por exocitosis requería una necesaria recuperación, y comencé por estudiar la de adenina y adenosina en células neurales. Junto con Pedro Rotllán describimos enzimas, nuevos inhibidores y captación en células vivas, comenzando el estudio de los transportadores. Desde entonces, los nucleótidos extracelulares, sus receptores, sus cascadas de señalización, su biología molecular y celular, con las implicaciones fisiopatológicas que acarrean, han sido mi campo de batalla, con algunos descubrimientos sorprendentes y con algunos desastres, pero siempre original y propio.

Al mismo tiempo que definía el área de investigación de cara al futuro, me presentaba a las oposiciones a cátedra de universidad, que en aquel momento se denominaban agregadurías, y que permitían el acceso directo a la cátedra posteriormente. De nuevo, temarios exhaustivos, dedicaciones plenas a la organización de temas y la investigación sufriendo retrasos. En 1981 obtengo la agregaduría de la Facultad de Medicina de Oviedo, donde estaba de catedrático y director del departamento Santiago Gascón. Muy generosamente me conceden la comisión de servicios y me quedo en Madrid como encargada de agregaduría durante el curso 1981-82. Ese mismo año mi esposo accede a la cátedra de Geometría y Topología Diferencial de la Universidad de Murcia y consigo trasladarme a esta universidad.

La Universidad de Murcia y la vuelta a Madrid

Llegué a Murcia en septiembre de 1982. José Antonio Lozano, rector por aquel entonces y catedrático de Bioquímica de la Universidad de Murcia, había conseguido crear un departamento interfacultativo, bien dotado de equipamiento y con una excelente biblioteca central. Fue quien facilitó mi llegada a la Facultad de Medicina y posteriormente a la cátedra de la Facultad de Biología. Suponía empezar de nuevo en otro lugar, pero reconozco que fue muy enriquecedor, me obligó a pensar de otro modo y ver posibilidades donde había incertidumbre. Estuve en Murcia cuatro cursos, desde 1982-83 hasta 1985-86. Los alumnos eran muy brillantes y emprendedores, bastaba oír una frase para crear una empresa. La ciudad era luminosa y disfrutaba de la vida en un ambiente lúdico, olía a flor de azahar.

Conseguí mis primeros proyectos como investigadora principal e inicié colaboraciones e intercambios con grupos dentro de la universidad y con el extranjero. Fue una época muy productiva, con artículos en *Cancer Research*, *Diabetes USA*, *Journal of Biological Chemistry*, *Journal of Neurochemistry*, etcétera. Habíamos puesto a punto técnicas originales de transporte de metabolitos a células por gradientes de silicona en colaboración con Roberto Parrilla, del CIB; parámetros exocitóticos en modelos de ratas diabéticas con el Departamento de Fisiología y el Hospital de la Arrixaca, con Andrés Muñoz y Tomás Quesada; sintetizamos los primeros compuestos radioactivos para cuantificar los transportadores de adenosina en colaboración con Pedro Molina, del Departamento de Química Orgánica; y desarrollamos todo tipo de técnicas de cultivos celulares, sobre todo de células cromafines. Finalmente, las tesis doctorales de Andrés Muñoz, Magdalena Torres Molina, Pedro Rotllán y Esmerilda García Delicado estaban listas para leer. Fue un tiempo frenético, y tuve además la opor-

tunidad de colaborar estrechamente con el que sería mi sucesor en la cátedra, Francisco García Carmona, sin duda el mejor especialista de análisis de cinética enzimática de este país y uno de los mejores de Europa en cinética enzimática en membranas biológicas y sintéticas. Ya en Madrid daríamos forma a algunos datos difíciles de entender al interpretar las cinéticas de transportadores de membrana, con muchas sorpresas.

Pero Murcia quedaba muy lejos de la familia que teníamos en Galicia y queríamos volver a Madrid. Entre tanto, como una broma del correspondiente gobierno, habían cambiado las reglas de juego y los agregados se habían quedado como catedráticos sin tener que moverse de sus respectivas plazas para acceder a la cátedra. Como no quedaba otro remedio, a principios de 1986 hago de nuevo la oposición a cátedra, la de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense.

Empiezo mi estancia en Madrid en el curso académico 1986-87, donde sigo desde entonces. Cuando entré en las instalaciones de la cátedra de Bioquímica en septiembre de 1986, me quedé sin habla. Era un laboratorio que carecía incluso de agua de calidad para las disoluciones. Suponía empezar de nuevo, pero por debajo de nivel cero. Sobreviví gracias a las colaboraciones y la mendicidad. La cara del problema es que había gente muy buena, como Amando Garrido y Milagrosa Gallego, con ganas de trabajar, y buscamos financiación solicitando nuevos proyectos de todo tipo y procedencia, así que enseguida cambiamos el aspecto de los laboratorios. La cruz es que teníamos a algunos docentes perfectamente adaptados al estado decadente y confortable, con demasiado tiempo libre y que disfrutaban de una ociosidad muy creativa, incordiando a todo ser viviente que se atrevía a trabajar. Les encantaba celebrar todo tipo de reuniones y asambleas; esta forma de actuar ha sido una auténtica lacra en el desarrollo de la investigación en las universidades españolas, sobre todo las consideradas históricas.

La carga lectiva era muy elevada, casi setecientos alumnos en Bioquímica de segundo curso y más de quinientos en Química de primero. El número no se redujo hasta que se fijó el cupo de alumnos que podían ser aceptados en primer curso de la licenciatura de Veterinaria. Fue importante para el buen funcionamiento docente que para el siguiente curso, 1987-88, consiguiéramos constituir el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular IV de la Universidad Complutense, siendo yo la primera directora. Coincidiendo con su creación, el año 1987 supuso la concesión de plazas para estabilizar a numerosos jóvenes en la universidad, y se celebraron oposiciones al año siguiente. Accedieron al título de profesor titular de universidad muchos miembros de mi grupo de Veterinaria, entre ellos Magdalena Torres, Esmerilda García Delicado y María Dolores Fideu, además de conseguir recuperar a José Sánchez-Prieto, que había hecho la tesina conmigo y continuaba de ayudante en la Facultad de Farmacia.

Los inicios de la investigación en la Facultad de Veterinaria de Madrid

Iniciamos la investigación rematando los trabajos sobre transportadores de membrana de adenosina y glucosa que habíamos desarrollado en Murcia y con una buena producción científica. De modo inesperado, el transportador equilibrativo de adenosina,

ENT, SLC29, nos deparaba una magnífica sorpresa, ya que mostraba un comportamiento cinético mnemónico, y fue el primero en ser descrito con esas características, lo que publicamos en 1993. Para sustentar este hallazgo, resultó indispensable el análisis cinético efectuado por el profesor García Carmona, de la Universidad de Murcia. Años más tarde, en 1996 y 1997, encontraríamos un comportamiento semejante en los transportadores vesiculares de nucleótidos, el VNUT, SLC17A9. Trabajo que realizaría Javier Gualix como parte de su tesis doctoral.

En 1987, en el laboratorio se produjo un gran hallazgo que hizo reorientar nuestra investigación sobre nucleótidos. Se incorporó para realizar una estancia posdoctoral un investigador muy brillante, el doctor Antonio Rodríguez del Castillo, que se había formado con mi discípulo, el profesor Pedro Rotllán, en la Universidad de La Laguna. Era un experto en cromatografía líquida de alta resolución (CLAR) y pensamos que sería interesante cuantificar en los gránulos secretores neuroendocrinos de la medula adrenal los diferentes tipos de nucleótidos. El problema era que no teníamos equipamiento de CLAR, así que pedimos ayuda al profesor Roberto Parrilla, que por aquel entonces estaba de vuelta en el CIB. Fue con ese equipo prestado cuando descubrimos en los gránulos cromafines la presencia de los diadenosina polifosfatos (ApnA), dinucleótidos cuya presencia no estaba prevista, y de ahí su importancia, ya que hasta entonces eran asimilados a subproductos debidos a reacciones secundarias en la activación de los ARNt. Ahora sabemos que casi todas las quinasas los producen como productos secundarios de sus reacciones.

El estudio de la biología molecular y celular de los diadenosina polifosfatos ha sido una constante en nuestra investigación, y el primer artículo fue publicado en 1988. Ser pioneros nos proporcionó una plataforma en el área purinérgica y un elevado número de referencias. En 1989, en el Congreso Internacional de Neuroquímica, conocí al profesor Burnstock, considerado el padre de la neurotransmisión purinérgica. Empecé a frecuentar las reuniones purinérgicas y a organizar reuniones internacionales y cursos en este campo. Un grupo de investigadores fundamos en 1990 el Purinergic Club, que no ha dejado de crecer, puesto que las acciones mediadas por nucleótidos son ubicuas en todos los seres vivos y posiblemente sean de las señalizaciones filogenéticamente más primitivas. Un joven investigador, Jesús Pintor, empezó a hacer su tesis en los diadenosina polifosfatos, primero estudiando las ectoenzimas que los degradaban y después buscando receptores específicos en tejidos neurales y neuroendocrinos. En 1995 identificamos un receptor ionotrópico específico para los diadenosina polifosfatos en las terminales presinápticas de cerebro de rata. En 1997, otro joven investigador, Javier Gualix, sintetizó los diinosina polifosfatos, inhibidores potentísimos del receptor de polifosfatos y también de los P2X1 y P2X3, ionotrópicos de ATP. Estos compuestos sirvieron para establecer intercambios y colaboraciones muy fructíferas con el grupo del profesor Burnstock en Londres, el del profesor Zimmermann en Frankfurt y con otros relevantes investigadores, financiados por un proyecto BIOMED de la Unión Europea. Los estudios de electrofisiología los hicimos gracias a un proyecto INTAS de colaboración entre la Unión Europea y los países escindidos de la Unión Soviética, con el profesor Oleg Krishtal, de Kiev, y el profesor Levon Piotrovsky, de San Petersburgo. El resultado más relevante de la colaboración fue descubrir una corriente postsináptica excitadora mediada por nucleótidos, confirmando su función neurotransmisora en hipocampo. La participación en proyectos internacionales

fue esencial para nuestro grupo, pues nos permitió formar una red internacional de colaboraciones que facilitó la circulación de investigadores e ideas.

Gracias a nuestros resultados originales recibíamos invitaciones para participar en numerosos congresos y reuniones tanto de la Sociedad Europea de Neuroquímica, de la Sociedad Internacional de Neuroquímica, de la que sería escogida por votación del miembro del ESN Council en agosto de 1992, como de las de la Molecular and Cellular Biology of Chromaffin Cells, siendo elegida en 1991 miembro del Advisory Board. Algunos años más tarde, en 1995, fui miembro electo del Council de la International Society for Neurochemistry (ISN), y ocupé el puesto de responsable de relaciones internacionales y el de coordinación electoral, lo que me permitió contactar con relevantes neurocientíficos de todo el mundo. Además, era miembro del consejo editorial del *Journal of Neurochemistry*, que es la publicación oficial de la sociedad científica. Mi última tarea en la ISN fue la de presidir el Comité Científico Internacional para organizar el programa científico del XXI Congreso Internacional conjunto de las Sociedades Internacional y Americana (ISN-ASN) que se celebró en Cancún en agosto de 2007. Estos se sumaron a los congresos y reuniones del Purinergic Club y a la organización de múltiples simposios y cursos en este campo, destacando los internacionales financiados por la Fundación Ramón Areces. Siempre he considerado esta función de difundir la ciencia y facilitar el contacto entre científicos muy gratificante, y una faceta más de mi compromiso docente.

Nuevos proyectos de investigación y otras funciones

El gran desarrollo del área purinérgica nos obligó a un continuo replanteamiento de los objetivos y a la necesidad de la correspondiente actualización metodológica, lo que se hizo todavía más patente desde el año 2000, cuando organizamos el Congreso Mundial Purinérgico en Madrid. Tuvimos que poner a punto las técnicas más actuales de videomicroscopía y microfluorimetría, gracias a un investigador notable, Enrique Castro, y conseguimos registrar la respuesta en calcio en células e incluso terminales sinápticas individuales. Los estudios funcionales eran seguidos por la identificación mediante inmunohistoquímica del tipo de receptores en cada una de las células o terminales sinápticas. Esta identificación del tipo de terminal, en paralelo con las respuestas a cada tipo de receptor, nos hizo comprender la potencialidad de la señalización purinérgica en diversas patologías del sistema nervioso. Los equipos necesarios para estos trabajos son muy costosos y fueron sufragados por proyectos nacionales, europeos y de fundaciones privadas. Entre las fundaciones privadas, la Fundación Ramón Areces fue la primera que nos concedió un proyecto y supuso un espaldarazo generoso para plantear objetivos más ambiciosos. El proyecto concedido por la Fundación la Caixa nos permitió tener las primeras evidencias de la implicación de los receptores de nucleótidos en las enfermedades neurodegenerativas.

Gracias al gran proyecto de la Fundación Botín, concedido en 2006, con don Rafael Benjumea como director general y don Pedro García Barreno como miembro del Comité Científico, pudimos implicarnos de lleno en el estudio de la fisiología y fisiopatología de los receptores de nucleótidos en el sistema nervioso y colaborar con grupos españoles y extranjeros excelentes. Uno de los grandes hitos fue dar una función fisiológica definida al receptor P2X7, que habíamos descrito como muy abundante en las terminales sinápticas del cerebro maduro.

Descubrimos en 2008 la presencia en los conos de crecimiento axonal del receptor ionotrópico P2X7 funcional, que se hizo en colaboración con el doctor Juan José Garrido y el doctor Miguel Díaz-Hernández y Rosa Gómez-Villafuertes, ambos miembros de mi grupo de investigación. Totalmente inesperado resultó que la activación del receptor, con entrada de calcio, redundaba en una parada del crecimiento axonal. No menos sorprendente fue descubrir que in vivo los axones para crecer tienen que destruir el ATP y otros agonistas mediante multitud de ectonucleotidasas, que se expresan colocalizando con el receptor. Estas enzimas habían sido estudiadas por nosotros desde los primeros trabajos de investigación en Madrid, hacía por lo menos veinte años, y los volvimos a recuperar. El P2X7 se mostraba como una diana perfecta para controlar el crecimiento axonal. Tuvimos la oportunidad de confirmar el descubrimiento in vivo en un modelo de epilepsia, gracias a un miembro de mi grupo, el doctor Miguel Díaz-Hernández, en colaboración con el doctor Tobias Engel, del College of Surgeons of Ireland. En efecto, en lesiones epilépticas con destrucción de neuronas de hipocampo, las nuevas neuronas y los axones que forman ramifican y expresan abundantemente el receptor P2X7 en sus terminales. Además, un exceso de la actividad del receptor producía el *estatus epilepticus*. La administración de antagonistas provocaba una atenuación de las crisis epilépticas, confirmando su importancia en las epilepsias sobre todo refractarias a los fármacos utilizados actualmente.

El comportamiento del receptor P2X7 en las enfermedades neurodegenerativas es muy diferente según el tipo de enfermedad. En la enfermedad de Huntington, en colaboración con el doctor José Javier Lozano vimos que, en ratones modelo de la enfermedad, las terminales procedentes del córtex motor que llegaban a las neuronas gabaérgicas de tamaño medio de la *substantia nigra* sobreexpresaban el receptor y el exceso de calcio internalizado por estos receptores favorecía la destrucción de las terminales. Mientras, en modelos animales de la enfermedad de Alzheimer familiar, los J20, los receptores P2X7 no parecen estar incrementados, ni la expresión del mensajero ni la de la proteína, pero sí su actividad. Según nuestros resultados, el receptor P2X7, mediante una cascada de señalización, activa la enzima GSK3, lo que produce una reducción de la actividad de la α-secretasa, que es la enzima del procesamiento no amiloidogénico de la proteína precursora de amiloide, la APP. Un aspecto no bien entendido es la presencia del receptor P2X7 funcional en astrocitos, descubierto por Esmerilda García Delicado, con la ayuda del profesor Antonio Rodríguez Artalejo, catedrático de Farmacología, con quien colaboramos muy estrechamente y que ha caracterizado electrofisiológicamente todos los receptores ionotrópicos P2X en los que hemos trabajado, y los procesos que requieren parámetros biofísicos.

Son muchos los aspectos de la señalización purinérgica sobre los que estamos investigando actualmente. Uno de ellos ha sido volver con nueva metodología a las acciones centrales de los diadenosina polifosfato, ya que sus niveles en medios de perfusión in vivo son suficientes para activar receptores de nucleótidos muy diversos y el papel que desempeñan las enzimas de destrucción específicas en la diferenciación neural.

De todos modos, he omitido casi por completo los trabajos sobre receptores metabotrópicos P2Y, y son estos los que más relevancia han adquirido después de que se descubrieran antagonistas específicos sobre el P2Y12 que impiden la formación de coágulos y se emplean para la

prevención del ictus cerebral. Otros muchos receptores P2Y tienen notables efectos vasculares y ya existen compuestos que actúan sobre P2Y2, P2Y4 que se utilizan en el tratamiento de ojo seco y glaucoma. En mi grupo, Raquel Pérez-Sen y Felipe Ortega han realizado aportaciones muy originales, en principio a nivel de ciencia básica, pero con gran potencial terapéutico de cara al futuro, ya que protegen a las neuronas del estrés citotóxico y radiaciones. Estos estudios nos permitieron dar un paso más en la comprensión de las cascadas de señalización de los receptores P2X y P2Y, involucrando por vez primera a los receptores P2Y13 en la regulación de las fosfatasas duales, DUSP, que revierten las cascadas de señalización. En la misma dirección, en colaboración con Antonio Cuadrado, hemos constatando la importancia del receptor P2Y13 sobre el estrés oxidativo, involucrando a la hemooxigenasa. Están, también, los efectos de los receptores P2Y1 y P2Y13 sobre los transportadores de glicina, con las connotaciones de control de dolor a nivel central, colaborando con el grupo de Carmen Aragón y Cecilio Giménez. La constante del receptor P2Y13 en todos estos procesos resulta de máximo interés y ya veremos su farmacología en apogeo en los próximos años. Pero no quisiera acabar este apartado sin introducir otro aspecto muy novedoso, fruto reciente de la colaboración con el profesor Lisardo Boscá. Estudiando los efectos de los nucleótidos en macrófagos, descubrió que el efecto de las prostaglandinas sobre la respuesta de los receptores P2Y que responden a nucleótidos de uridina no se debe a la interacción de sus receptores, sino a la acción directa de las prostaglandinas sobre una PKC atípica, que se encuentra en la cascada de señalización. Es posible que este mecanismo pueda generalizarse en múltiples procesos inflamatorios. Las sorpresas y las novedades en esta área son continuas y están ahí para ser descubiertas.

Suele ocurrir que, cuando uno está sumergido en algo apasionante, como era la investigación que estábamos realizando, y además por primera vez en mi vida sin agobios económicos, surgen fuerzas mayores que nos distraen del objetivo principal. En estas ocasiones es bueno leer a los clásicos y recordar a Baltasar Gracián: «Hay ocupaciones extrañas que son polilla del tiempo precioso». No consideraría algunas de las actividades que realicé durante estos últimos años como extrañas a mi labor docente o investigadora, podría pensar que eran una extensión con proyección extra universitaria. La realidad es que consumían gran cantidad de un tiempo del que carecía en muchas ocasiones. Algunas de estas actividades me dieron visibilidad y pude hacer e introducir cambios en estructuras rígidas, incluso pude opinar en voz alta. Lo mejor es que en ese viaje, cuando uno trata de hacer algo, se encuentra con gente tan idealista e ingenua como uno mismo. Por lo general gente muy obstinada y convencida de que vale la pena tratar de hacer cosas bien hechas. El problema es siempre la inercia del sistema.

En enero de 2001 leí mi discurso de entrada como Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia, siendo presentada por don Ángel Santos-Ruiz. En diciembre de 2006 fui elegida presidenta de la Real Academia Nacional de Farmacia. Lo de ser la primera mujer presidenta de una Real Academia del Instituto de España fue, aparentemente, toda una revolución. La realidad es que se cumplió aquello de que «en el pecado va la penitencia», puesto que el aprendizaje fue intensivo y los temas a los que había que prestar atención estaban muy alejados de lo que había sido mi labor docente e investigadora. Tuve la inmensa suerte de contar con la ayuda de todos los académicos y fueron muy generosos con mis torpezas iniciales. Los consejos de don Juan Manuel Reol Tejada, el anterior presidente, siempre prudentes y acertados, fueron indispensables para sobrevivir los primeros meses

del cargo. Con posterioridad fui elegida Académico de Número de la Real Academia de Ciencias Veterinarias, de la Real Academia de Farmacia de Cataluña, de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica de Argentina y de la European Academy of Arts, Sciences and Humanities (EAASH)/Académie Européenne des Sciences, des Arts et des Lettres (AESAL). Especialmente entrañable para mí resultó la conferencia que impartí en la sede de la Academia Francesa, donde presenté mi trabajo de investigación como Académico de L'Académie National de Pharmacie de France en mayo de 2012; me emocionó, puesto que siempre he tenido gran respeto por la ciencia y la cultura francesa, de la que me considero deudora. En 2011, mis colegas ingleses y alemanes con los que había colaborado a lo largo de muchos años proponían mi candidatura como miembro de la Academia Europea, en la Section C3 Physiology and Medicine. Así pués, soy académico desde octubre de 2011. Un gran honor inesperado fue el nombramiento de Doctor Honoris Causa por la Universidad Rey Juan Carlos de la Comunidad de Madrid, con un acto de toma de posesión con mucho sabor académico el día 28 de enero de 2013. Siempre les estaré agradecida por haber pensado en mí.

Los comités de evaluación nacionales e internacionales, las invitaciones a formar parte de prestigiosos jurados, reconozco que sirven para conocer mejor el sustrato creativo y de gente valiosa y esforzada que hay en nuestro país, que no solamente no se rinden sino que son un verdadero ejemplo para todos. Nunca consideré estas reuniones como trabajo rutinario, y me produce una profunda satisfacción constatar que hay gente de gran valía en la construcción de la ciencia. Finalmente, el nombramiento de presidenta del Comité Ministerial para la Reforma y Mejora de la Calidad y Eficiencia del Sistema Universitario Español, en 2012, cuajó en 2013 con un documento entregado al señor ministro de Educación, don José Ignacio Wert. Fue realizado con el esfuerzo de un comité de gran nivel preocupado solamente por la adecuación de las universidades españolas al tiempo presente. Esperemos que alguien lo rescate algún día.

Un último componente, que se debe a los muchos años de trabajo y a la edad, es que de vez en cuando te dan algún premio. He recibido, entre otros, el premio de la Confederación Española de Organizaciones Empresariales (CEOE) en Ciencias Biomédicas en 2004, el de Investigación de la Xunta de Galicia en 2008 y el de Investigación a la Carrera Científica de la Comunidad de Madrid en 2011. Todos ellos indican que he alcanzado la edad de merecer y se agradecen doblemente. Pero el que más ilusión me hizo fue el primer premio de investigación que se daba en mi pueblo, el de Arenteira Científica; la escultura es una preciosa hoja de roble en bronce, la denominación es por el río; que se llama Arenteiro, y es una joya de la naturaleza.

Consideración final

Siempre he pensado que la ciencia es una labor colectiva realizada por gente normal, con mucho esfuerzo y dedicación, con algunas cumbres de ideas originales que son más bien escasas. La ciencia requiere para desarrollarse una sociedad que esté convencida de que la necesita y que la respete. Como docente creo que la investigación es indispensable para el desarrollo de la propia universidad, y que es ahí donde se estimula el poder creativo de los futuros científicos y, sin duda, se conciben las ideas más originales, pues los cerebros son más jóvenes.

Bibliografía de ideas originales

V. Morente, R. Pérez-Sen, F. Ortega, J. Huerta-Cepas, E. G. Delicado y M. T. Miras-Portugal, «Neuroprotection elicited by P2Y13 receptors against genotoxic stress by inducing DUSP2 expression and MAPK signaling recovery», en *Biochim Biophys Acta,* vol. 1843, n.º 9, 2014, pp. 1886-1898.

P. G. Través, M. Pimentel-Santillana, L. M. Carrasquero, R. Pérez-Sen, E. G. Delicado, A. Luque, M. Izquierdo, P. Martín-Sanz, M. T. Miras-Portugal y L. Boscá, «Selective impairment of P2Y signaling by prostaglandin E2 in macrophages: implications for Ca2+-dependent responses», en *J Immunol*, vol. 190, n.º 8, 2013, pp. 4226-4235.

J. I. Díaz-Hernández, R. Gómez-Villafuertes, M. León-Otegui, L. Hontecillas-Prieto, A. del Puerto, J. L. Trejo, J. J. Lucas, J. J. Garrido, J. Gualix, M. T. Miras-Portugal y M. Díaz-Hernández, «In vivo P2X7 inhibition reduces amyloid plaques in Alzheimer›s disease through GSK3beta and secretases», en *Neurobiol Aging*, vol. 33, n.º 8, 2012, pp. 1816-1828.

T. Engel, R. Gómez-Villafuertes, K. Tanaka, G. Mesuret, A. Sanz-Rodríguez, P. García-Huerta, M. T. Miras-Portugal, D. C. Henshall y M. Díaz-Hernández, «Seizure suppression and neuroprotection by targeting the purinergic P2X7 receptor during status epilepticus in mice», en *Faseb J*, vol. 26, n.º 4, 2012, pp. 1616-1628.

F. Ortega, R. Pérez-Sen, E. G. Delicado y M. T. Miras-Portugal (2011), «ERK1/2 activation is involved in the neuroprotective action of P2Y(13) and P2X7 receptors against glutamate excitotoxicity in cerebellar granule neurons», en *Neuropharmacology,* vol. 61, n.º 8, 2011, pp. 1210-1221.

L. M. Carrasquero, E. G. Delicado, L. Sánchez-Ruiloba, T. Iglesias y M. T. Miras-Portugal, «Mechanisms of protein kinase D activation in response to P2Y(2) and P2X7 receptors in primary astrocytes», en *Glia*, vol. 58, n.º 8, 2010, pp. 984-995.

P. Marín-García, J. Sánchez-Nogueiro, A. Díez, M. León-Otegui, M. Linares, P. García-Palencia, J. M. Bautista y M. T. Miras-Portugal, «Altered nucleotide receptor expression in a murine model of cerebral malaria», en *J Infect Dis*, vol. 200, n.º 8, 2009, pp. 1279-1288.

M. Díaz-Hernández, A. del Puerto, J. I. Díaz-Hernández, M. Díez-Zaera, J. J. Lucas, J. J. Garrido y M. T. Miras-Portugal, «Inhibition of the ATP-gated P2X7 receptor promotes axonal growth and branching in cultured hippocampal neurons», en *J Cell Sci,* vol. 121, n.º 22, 2008, pp. 3717-3728.

R. Gómez-Villafuertes, J. Pintor, J. Gualix y M. T. Miras-Portugal, «GABA modulates presynaptic signalling mediated by dinucleotides on rat synaptic terminals», en *J Pharmacol Exp Ther*, vol. 308, n.º 3, 2004, pp. 1148-1157.

J. Mateo, M. García-Lecea, M. T. Miras-Portugal y E. Castro, «Ca2+ signals mediated by P2X-type purinoceptors in cultured cerebellar Purkinje cells», en *J Neurosci*, vol. 18, n.º 5, 1998, pp. 1704-1712.

J. Gualix, M. D. Fideu, J. Pintor, P. Rotllán, F. García-Carmona y M. T. Miras-Portugal, «Characterization of diadenosine polyphosphate transport into chromaffin granules from adrenal medulla», en *Faseb J*, vol. 11, n.º 12, 1997, pp. 981-990.

J. Pintor, J. Gualix y M. T. Miras-Portugal, «Diinosine polyphosphates, a group of dinucleotides with antagonistic effects on diadenosine polyphosphate receptor», en *Mol Pharmacol*, vol. 51, n.º 2, 1997, pp. 277-284.

J. Pintor y M. T. Miras-Portugal, «A novel receptor for diadenosine polyphosphates coupled to calcium increase in rat midbrain synaptosomes», en *Br J Pharmacol,* vol. 115, n.º 6, 1995, pp. 895-902.

T. Casillas, E. G. Delicado, F. García-Carmona y M. T. Miras-Portugal, «Kinetic and allosteric cooperativity in L-adenosine transport in chromaffin cells. A mnemonical transporter», en *Biochemistry*, vol. 32, n.º 51, 1993, pp. 14203-14209.

I. Herrero, M. T. Miras-Portugal y J. Sánchez-Prieto, «Positive feedback of glutamate exocytosis by metabotropic presynaptic receptor stimulation», en *Nature,* vol. 360. n.º 6.400, 1992, pp. 163-166.

A. R. del Castillo, M. Torres, E. G. Delicado y M. T. Miras-Portugal, «Subcellular-Distribution Studies of Diadenosine Polyphosphates –Ap4a and Ap5– a in Bovine Adrenal Medulla: Presence in Chromaffin Granules», en *J Neurochem*, vol. 51, n.º 6, 1988, pp. 1696-1703.

JOSÉ LÓPEZ BARNEO

RECUERDOS Y REFLEXIONES SOBRE MI VIDA CIENTÍFICA

10

La primera reflexión que se me ocurre plantear en este texto autobiográfico sobre mi vida científica es que, aunque no ha estado exenta de decepciones y algunos fracasos, me siento afortunado por haber hecho los estudios y la carrera profesional que soñé cuando era niño. Además, he tenido la suerte de vivir en una época especial de la historia de España, de gran desarrollo después de un periodo de atraso secular, en la que la labor de los científicos, además de favorecer el avance del conocimiento, ha contribuido al progreso y modernización del país. Durante estos años nos hemos dotado de un Sistema Nacional de Ciencia y Tecnología que, aunque con numerosas limitaciones y defectos, es único en nuestra historia. España se ha homologado internacionalmente y ello ha diluido el componente «patriótico» que para algunos tenía el hacer «ciencia» en nuestra tierra. Desde una perspectiva más global, las últimas décadas han sido de transformación profunda de la investigación biomédica; la explosión de la biología molecular y los avances posteriores en genética han borrado las fronteras entre las disciplinas y han acercado los resultados de la investigación fundamental a la medicina clínica o la aplicación biotecnológica. En este proceso de cambio, la electrofisiología y la neurociencia, mis áreas de especialización, están entre las más afectadas.

En el año 2008 tuve el honor de ser nombrado hijo predilecto de Torredonjimeno (Jaén), mi pueblo natal (1952), en el que pasé la infancia y la adolescencia. Se celebró un acto en el Instituto Santo Reino, donde estudié el bachillerato laboral elemental hasta los quince años, y como recuerdo del evento la directora del centro me regaló una copia de la ficha de ingreso que cumplimenté con diez años y en la que ya manifestaba mi deseo de ser médico —y que el fútbol era mi deporte favorito—. Cuando después de tantos años uno contempla el camino recorrido encuentra momentos que pudieron ser distintos y que podrían haber modificado la trayectoria vital. Las circunstancias, variadas, a veces complejas, y generalmente difíciles de comprender y valorar en tiempo real, son determinantes en el devenir de las personas. Sin embargo, creo también que la generación de un «motor interno personal» que nos mueva perseverantemente hacia el cumplimiento de nuestros sueños debe ser un cometido esencial de la familia y la escuela, especialmente durante los primeros años.

Mi padre, Amando López Rísquez, era chófer de camiones de una empresa de transportes, y mi madre, Emiliana Barneo Carpio, era ama de casa. Ambos tenían una instrucción elemental, de solo unos pocos años, en la escuela primaria, pero desde mi infancia estimularon en mí el deseo natural de aprender y avanzar en los estudios. Aunque en mi familia no había universitarios, tuve una formación muy sólida gracias a mi maestro don Rafael Fernández, entre los siete y los diez años, y a los profesores del Instituto Laboral (de los diez a los quince años). En este centro se impartía una enseñanza que combinaba el estudio de las asignaturas clásicas con talleres de mecánica, carpintería y electricidad. Esta era una

instrucción diseñada para proporcionar un nivel cultural básico a los hijos de trabajadores más «espabilados», que posteriormente aprendían un oficio cualificado en las escuelas de maestría industrial. Yo no seguí ese camino, pero me vino muy bien el contacto con las máquinas y herramientas que, años más tarde, como electrofisiólogo, tuve que utilizar en los laboratorios de investigación. El bachillerato elemental lo hice gracias a que obtuve una beca del denominado Patronato para la Igualdad de Oportunidades, que exigía aprobar todas las asignaturas en los exámenes finales de junio y, para hacer bachiller superior, obtener una nota media de 7. En este ambiente nació mi vocación médica, creo que influido por las conversaciones que con frecuencia tenía con mi madre, y por la lectura de las biografías de Fleming, Pasteur y otros «héroes» de la investigación biomédica. Al acabar el bachillerato elemental obtuve la beca para hacer el bachillerato superior técnico y fui «destinado» a la Universidad Laboral de Alcalá de Henares. En este centro, recién inaugurado, realicé en dos años y con profesores extraordinarios estudios de Química, Física, Matemáticas, Electrónica y otras materias que dejaron en mí una huella imborrable. En cada Universidad Laboral el bachillerato técnico tenía un *major* o especialización, que, en mi caso, fue Electrónica. Disponíamos de unos talleres de electrotecnia, radio y televisión donde pasábamos al menos tres horas diarias con equipos de primer nivel a disposición de los alumnos. En 1967, en plenitud de la dictadura franquista, yo disponía de un televisor para hacer prácticas cuando en la calle donde vivían mis padres solo una familia había podido acceder a semejante lujo. La Universidad Laboral de Alcalá me proporcionó todo lo necesario para progresar intelectualmente y como persona. Todos los que allí estábamos —de diferentes regiones de España— habíamos pasado por un proceso selectivo muy estricto, por lo que éramos trabajadores, inteligentes e hijos de obreros. En ese ambiente era natural que nos sintiésemos orgullosos de nuestro origen y conscientes de las posibilidades que el estudio nos ofrecía. La formación en ciencias y tecnología fue además un complemento muy valioso de mi espontánea vocación médica. Por entonces tenía una memoria excelente y desde niño esta había sido la herramienta que me había permitido transitar con facilidad por la parte más enciclopédica de los estudios. Los talleres me obligaron a utilizar una forma distinta de conocer, que además de la memoria requería el uso práctico del raciocinio y un desarrollo aceptable del sistema motor. En junio de 1969 me examiné de la Prueba de Madurez en la Universidad Complutense —precisamente en el Aula Magna de la Facultad de Medicina—, y pocas semanas más tarde me llegó una carta con la concesión de una beca para estudiar la carrera de Medicina en la universidad que yo eligiese. Trasladé el expediente de la Universidad Complutense de Madrid a la de Sevilla, donde comencé la carrera en octubre de 1969.

En comparación con la Universidad Laboral, la Facultad de Medicina de Sevilla me pareció pobre, falta de instalaciones y con un profesorado que en muchos casos era de calidad inferior al que había tenido anteriormente. No obstante, debo mucho a mi paso por esa universidad. Tuve algunos profesores brillantes que no solo fortalecieron mi vocación biomédica, sino que además me enseñaron el camino a seguir para formarme como investigador. Todo ello en una época compleja pero muy atractiva de la universidad española, que contaba con una parte importante del profesorado y alumnado situado en la vanguardia de la lucha antifranquista. Elizabeth Pintado Sanjuán, mi compañera de curso con la que llevo viviendo cuarenta y dos años, me introdujo en el movimiento estudiantil y, como conse-

cuencia de ello, durante los tres últimos años de la carrera (entre 1973 y 1975) compartí mis tareas como alumno interno del Departamento de Fisiología con las de delegado de curso. Estudié con interés las asignaturas clínicas porque me gustaban y porque, además, sabía que del expediente académico dependía no solo poder finalizar la carrera, sino obtener una beca para realizar la tesis doctoral. Sin embargo, desde muy pronto comprendí la dificultad que tenía entonces —y también ahora— compaginar la práctica médica con la investigación fundamental. Entre 1975 y 1978, siendo ya profesor ayudante y becario predoctoral, ejercí seis meses de médico en un campamento militar y en un pueblo (Peñarroya-Pueblonuevo, Córdoba), creo que con buen juicio. Todavía sigo encontrándome con antiguos pacientes que me recuerdan cómo hace casi cuarenta años los traté de hipertensión arterial, cólico nefrítico o alguna otra dolencia. El salario de médico era muy superior al de doctorando, lo que me permitió ahorrar recursos para poder vivir dignamente en París con mi familia durante la primera estancia posdoctoral.

La decisión de convertirme en fisiólogo se produjo al cursar las asignaturas de Fisiología General y Especial con Diego Mir Jordano, catedrático que acababa de llegar de la Universidad de Yale, donde había estado trabajando varios años con José Manuel R. Delgado. Este fue un controvertido psiquiatra español, residente en Estados Unidos, que en los años sesenta tuvo algunas ideas científicas muy originales relacionadas con el control de las funciones cerebrales mediante la estimulación eléctrica, pero que, según la opinión generalizada, no supo avanzar de forma sólida en su trabajo experimental. Las excelentes clases impartidas por Diego Mir, que todavía recuerdo, y la belleza intrínseca de los mecanismos fisiológicos, que nos explicaba en muchos casos con detalles moleculares recién descubiertos, me atrajeron inmediatamente y me indujeron a descartar otras opciones y a solicitar la plaza de alumno interno en Fisiología. Mis primeros pasos en la investigación experimental fueron con cerebros de ratas anestesiadas en los que introducíamos electrodos finos de tungsteno que utilizábamos bien para estimular diferentes partes del cerebro o bien para registrar la actividad eléctrica cerebral (una especie de electroencefalograma profundo). Hice una tesis de licenciatura sobre la neurofisiología de la amígdala y, aunque no sabíamos muy bien qué queríamos descubrir, mi compañero Juan Ribas y yo dedicábamos al laboratorio jornadas de trabajo de once o doce horas de lunes a sábado. Desde muy pronto experimenté lo que significaba hacer investigación experimental en la Sevilla de 1975. Nuestro departamento lo formaban habitaciones y pasillos vacíos sin equipamiento ni personal, algo muy similar a lo que Santiago Ramón y Cajal refiere en sus obras como normal en las instituciones españolas de finales del siglo XIX. Diego Mir hacía un esfuerzo titánico por impartir y organizar una docencia mínimamente aceptable para los más de mil quinientos alumnos del departamento y por conseguir algún recurso para montar un laboratorio de investigación. Aunque en esa época ya había comenzado el despegue científico español en otras áreas, como por ejemplo la bioquímica, la neurofisiología española era prácticamente inexistente, con algún grupo incipiente, aunque algo mejor dotado que el nuestro, en Madrid, Valladolid y Santiago de Compostela. De Diego Mir aprendí a distinguir lo bueno de lo malo tanto en el trabajo científico como en el docente, y fue él quien me indicó el camino a seguir para llegar a ser un científico. Con la ayuda de Juan Ribas y José María Delgado García, doctorando anterior a nosotros que por aquella época disfrutaba de una estancia posdoctoral en la Universidad de Nueva York, pude lograr algunos

registros de la actividad eléctrica de neuronas del tronco cerebral que regulan la motilidad ocular y también logré escribir la tesis doctoral. Durante este periodo (en 1977) realicé mi primera presentación científica en un congreso de fisiología celebrado en la Universidad Autónoma de Barcelona. Tuve que hacer una exposición que, aunque creo que gustó, fue muy acelerada, ya que expliqué casi treinta diapositivas en quince minutos. Entre los presentes, me imagino que asombrados por el espectáculo, se encontraba Antonio Fernández de Molina, quien pasados los años me decía que le di la impresión de ser «un caballo desbocado». Consciente de las limitaciones de mi entorno, solicité una beca a la European Brain and Behavior Society para pasar nueve meses en París y progresar como investigador. La concesión de la beca inclinó mi vida en una dirección que podría haber sido diferente, pues en el caso de no haberla obtenido tenía decidido hacer una especialidad médica a través del sistema MIR. Además de esta circunstancia azarosa que tanto influyó en mi trayectoria vital, nunca he sabido por qué fui tan «leal» con la neurofisiología y no reconduje mi carrera hacia otra disciplina, como la bioquímica, que me gustaba y ya contaba en España con los primeros grupos e instituciones de nivel internacional.

En enero de 1978 me trasladé a París con mi mujer y nuestras hijas gemelas de dos años y medio para vivir mi primera estancia posdoctoral. Elizabeth, que hablaba muy bien francés y era doctoranda del recién creado Departamento de Bioquímica, pudo conseguir, no sin vencer algunas dificultades, venir conmigo y trabajar en el Collège de France con Jean Girard. Yo trabajé con Alain Berthoz en el laboratorio de Neurofisiología Sensorial del CNRS, situado cerca del Collège, junto a la École Normal Supérieure, en pleno Barrio Latino. Berthoz, uno de los neurofisiólogos franceses más pujantes de la época, había sido colaborador de Robert (Bob) Baker, con quien trabajaba José M. Delgado García en Nueva York. Me incorporé a un proyecto que estaba recién iniciado y que desarrollaba Christian Darlot, un doctorando de Berthoz. El objetivo era estudiar las neuronas del tronco del encéfalo que regulan la motilidad ocular. En aquella época, el sistema oculomotor era uno de los modelos más desarrollados para el estudio de las funciones motoras y de la plasticidad neuronal. Uno de los temas candentes era la identificación del lugar donde se generaban las señales electrofisiológicas que, actuando sobre las motoneuronas de los músculos oculares, producían el movimiento y mantenimiento de la posición de los ojos. Junto con Christian, Alain y Bob llevé a cabo un estudio en gatos despiertos en el que analizamos la actividad eléctrica de casi doscientas neuronas del núcleo *prepositus hypoglossi*, una zona localizada en el tronco del encéfalo entre los núcleos motor ocular externo e hipogloso. Muchas de estas células tenían una frecuencia de disparo de potenciales de acción en la que se codificaba de forma extraordinariamente precisa la velocidad y/o la posición de los ojos en los planos horizontal o vertical. Fruto de estos experimentos y de los que realizamos el año siguiente durante estancias breves en el mismo laboratorio fue un artículo[1] en el *Journal of Neurophysiology* que se ha convertido en un clásico dentro de la fisiología del sistema oculomotor. La publicación de este artículo, por su extensión y por su significado, fue mi puesta de largo en la fisiología internacional y, aunque posteriormente abandoné este tema de trabajo, desde entonces sentí que «podía hacer cosas» y que «tenía una historia científica que contar». A pesar de las dificultades y las incertidumbres propias de los inicios de una carrera profesional, los recuerdos que tengo de esta estancia en París son imborrables. Alain Berthoz y su grupo me acogieron con aprecio y generosidad, y en los

pocos meses de estancia con ellos pude conocer cómo era realmente el ambiente científico en los países avanzados.

Durante la estancia en Paris se produjo otra circunstancia fortuita que, de nuevo, influyó decisivamente en mi vida profesional. De forma imprevista conocí a Rodolfo Llinás, neurofisiólogo de origen colombiano que era —y lo ha sido hasta hace un par de años— el director del Departamento de Fisiología y Biofísica de la Facultad de Medicina de la Universidad de Nueva York. Por aquel entonces, Rodolfo Llinás ya era un líder de la neurociencia mundial; entre otros, había realizado con John Eccles (Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1963) un trabajo excelente sobre las conexiones del cerebelo y acababa de descubrir que la dendritas de las neuronas no eran elementos pasivos, como se pensaba, sino que podían generar activamente potenciales de acción de calcio. Por razones que nunca supe —quizá porque siempre ha tenido un gran aprecio por España y los españoles—, Rodolfo me invitó a cenar uno de los pocos días que pasó en París. Durante la cena me hizo un amplio examen sobre fisiología, medicina, e incluso filosofía, y me hizo ver que para llegar a ser un electrofisiólogo «duro» tenía que pasar tres o cuatro años en Estados Unidos y formarme bien; primero en un grupo de biofísica de membranas y posteriormente en su laboratorio trabajando sobre las propiedades eléctricas intrínsecas de las neuronas centrales. Todavía recuerdo la vuelta a mi casa aquella noche, totalmente hechizado por la conversación con Rodolfo, persona con gran inteligencia y poder de persuasión y, sin duda, uno de los fisiólogos más relevantes del siglo XX. Rodolfo me aconsejó que escribiese a Francisco (Pancho) Bezanilla (Universidad de California, Los Ángeles) o a Clay Armstrong (Universidad de Pensilvania) para trabajar con ellos en el axón gigante del calamar. Estos investigadores representaban entonces lo mejor de la fisiología posterior a Alan Hodgkin y Andrew Huxley (Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1963), ya que habían descubierto unos años antes las *gating currents*, corrientes capacitativas que se producen por el movimiento de cargas eléctricas dentro del espesor de la membrana y que se deben al movimiento de las compuertas que abren y cierran los canales iónicos transmembranarios. Las medidas de estas corrientes —hito tecnológico de aquella época— tenían un valor conceptual muy importante, puesto que sustentaban la existencia de los canales iónicos regulados por el potencial de membrana propuestos por Hodgkin y Huxley.

Tras la vuelta de París (curso académico 1978-79), fui nombrado profesor agregado interino en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de Sevilla, lo que supuso una notable mejora en salario y en calidad de vida para mi familia. Con los compañeros del departamento montamos un excelente *set up* de electrofisiología del sistema motor ocular en gatos despiertos y realizamos los primeros experimentos con un enfoque científico preciso y dirigido a un fin concreto, y esto nos permitió lograr varias publicaciones en revistas internacionales de las que todavía hoy me siento muy orgulloso. Este fue un periodo de transición, ya que al mismo tiempo inicié los trámites para hacer el posdoctorado en Estados Unidos. Descartado Pancho Bezanilla, que me pidió que esperase un año por no tener disponible espacio en su laboratorio, fui aceptado por Clay Armstrong, que además me ofreció plaza de posdoctorado, con salario incluido, para incorporarme a su grupo lo antes posible. Entre los meses de abril y septiembre, el laboratorio de Armstrong se desplazaba al Marine Biology Laboratory de Woods Hole (Massachusetts, Estados Unidos) para trabajar

en el axón gigante del calamar, modelo que entonces era prácticamente el único que permitía hacer biofísica de las corrientes iónicas transmembranarias. El laboratorio no solía tener actividad experimental durante los meses de invierno, y Armstrong me propuso que hiciese un proyecto sobre electrofisiología de células endocrinas. En aquel tiempo, el estudio de las células endocrinas atraía el interés de los biofísicos debido a que algunas —como las de hipófisis y páncreas— tenían canales iónicos voltaje-dependientes similares a los conocidos en las denominadas «células excitables» —neuronas y músculo— y, por lo tanto, eran capaces de generar potenciales de acción.

Me marché a Estados Unidos a finales de enero de 1980, dejando a la familia en Sevilla, pues pensamos que nuestras hijas debían acabar el curso escolar en España. Elizabeth había sido aceptada para hacer un posdoctorado en el Departamento de Bioquímica de Penn, al que se incorporó unos meses más tarde. Durante mi viaje a América, decidí trabajar sobre las células de la glándula paratiroides, ya que su electrofisiología era desconocida y su actividad secretora se activaba por la bajada de calcio extracelular, algo inusual porque los sistemas secretores normalmente requieren la entrada de calcio del medio externo para inducir la exocitosis. Mi primera impresión del laboratorio de Armstrong fue decepcionante. En el país líder de la ciencia mundial esperaba contar con instalaciones modernas y equipamiento de la máxima calidad, y lo que encontré fue una habitación llena de cacharros y aparatos averiados. Lo único que funcionaba era un ordenador, abierto por todas partes, con el que Armstrong hacía sus cálculos y modelos. Sin embargo, antes de irnos ese año a Woods Hole había conseguido montar un *set up* de registro funcionando perfectamente y disponer de los primeros datos sobre la electrofisiología de las células paratiroides. Armstrong me enseñó —con gran paciencia— a utilizar los amplificadores operacionales y otros microchips, y en pocas semanas construimos un amplificador de registro con microelectrodos de alta resistencia, estimuladores, sistemas de calentamiento de las soluciones y otros accesorios. El trabajo, completado en los años siguientes, demostró que el potencial de membrana de la célula paratiroidea se regula de forma muy precisa por el calcio extracelular y otros cationes divalentes. Propusimos por vez primera la existencia en la membrana de un sensor de calcio y con la técnica de criofractura observamos dicho receptor como partículas transmembranarias con un notable dominio extracelular.[2] Inspirados en nuestro trabajo, el grupo de Edward Brown, de la Universidad de Harvard, clonó unos años más tarde el sensor o receptor extracelular de calcio a partir de paratiroides de vaca. Este consiste en una proteína con siete hélices transmembrana y un dominio extracelular muy amplio y rico en aminoácidos dicarboxílicos que unen iones de calcio. Además de en la glándula paratiroides, el receptor de calcio extracelular se encuentra en numerosos tejidos —cerebro y riñón, ente otros—, aunque sus funciones en estos casos no son del todo conocidas.

Durante los veranos en Woods Hole, el proyecto de investigación fue el registro de corrientes iónicas en pequeños «parches» de membrana del axón gigante del calamar con la idea de poder registrar un solo canal iónico. A principios de 1980 se discutía si los canales iónicos funcionaban como entidades discretas, que permitían el flujo a través de la membrana de un «paquete» de iones por unidad de tiempo. Inspirados por un trabajo reciente de Erwin Neher (Instituto Max-Plack, Gotinga), en el que mediante la técnica de *patch clamp* había podido registrar corriente por canales únicos de K+, intentamos hacer lo mismo para

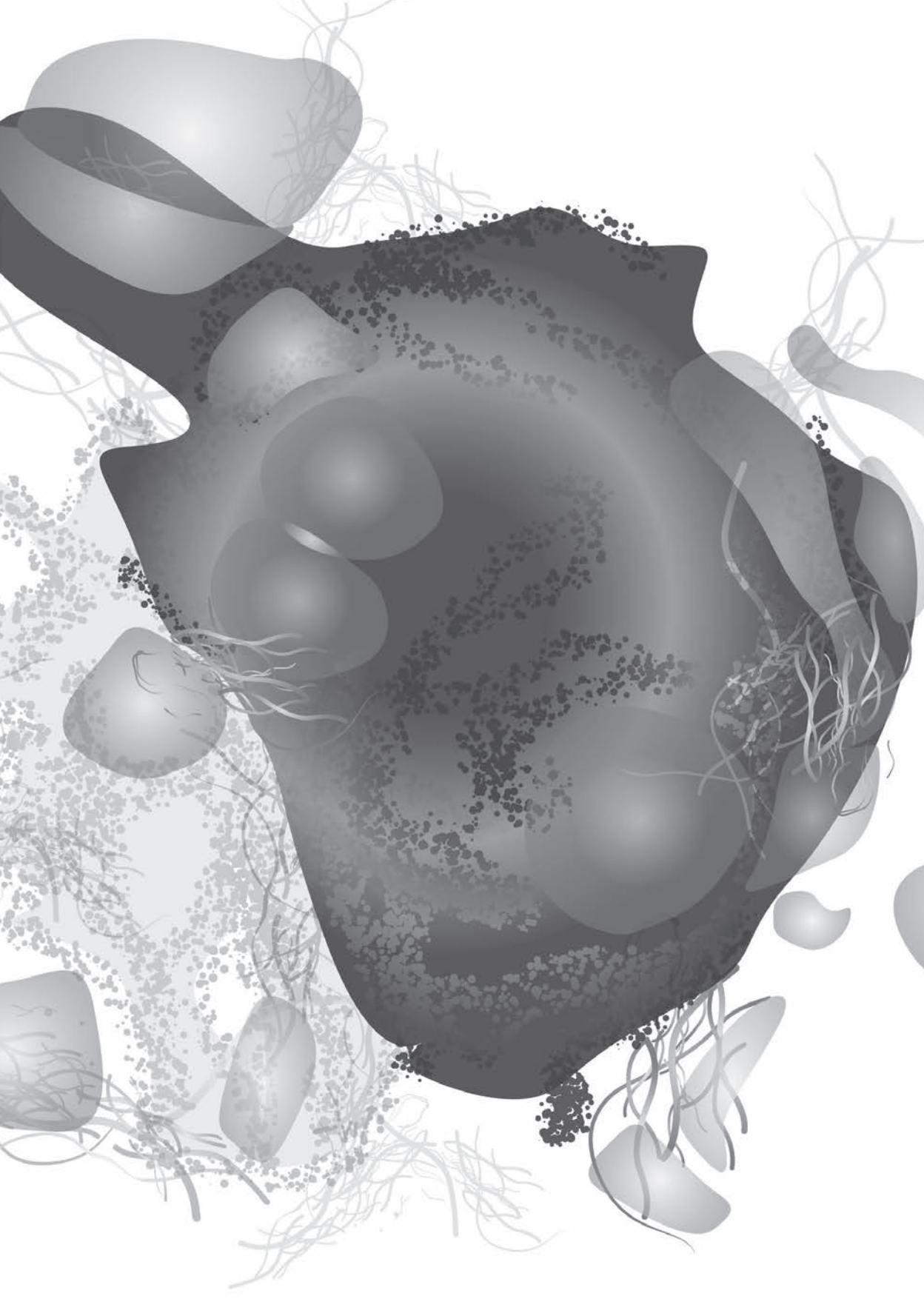
los canales de Na+. Durante varios meses en Woods Hole trabajé de forma muy intensa pero con pocos resultados. Neher vino a dar un seminario y nos mostró registros de corrientes por canales únicos de Na+ de muy alta calidad realizados en miotubos con una nueva técnica (*gigaseal*) que acababa de descubrir. Años más tarde, en 1991, Erwin Neher, junto a Bert Sakmann, recibió el Nobel de Fisiología y Medicina por el descubrimiento de las técnicas de *patch clamp*. En el axón del calamar obtuvimos registros de unos quince a veinte canales de Na+, y con esos datos hice una presentación en el congreso de la Biophysical Society celebrado en Denver el 23 de febrero de 1981 —mientras el Congreso de los Diputados de España estaba ocupado por guardias civiles anticonstitucionales—. Fue mi primera presentación oral en inglés frente a un público numeroso y creo que tuvo buena aceptación. En septiembre de 1982 volvimos toda la familia a España y obtuve una plaza de profesor adjunto numerario en el Departamento de Fisiología de la Facultad de Medicina de Sevilla. Mientras montaba el laboratorio, volví solo a Nueva York (entre febrero y mayo de 1983) para completar el posdoctorado con una estancia en el laboratorio de Rodolfo Llinás. Las oposiciones a profesor adjunto las había celebrado unos meses antes en Alicante, ya que el presidente del tribunal era Carlos Belmonte, que me trató de forma que nunca podré olvidar y agradecer suficientemente. Desde entonces, Carlos se convirtió en un mentor y amigo. En Nueva York coincidí durante más de un mes con Antonio Fernández de Molina, que era uno de los fisiólogos más influyentes de España. La relación de amistad que entablamos en aquella época permitió que posteriormente me ayudase a establecerme como investigador independiente en Sevilla.

Siempre he pensado que el posdoctorado en Estados Unidos, aunque parco en publicaciones, cumplió ampliamente los objetivos previstos. Clay Armstrong y Rodolfo Llinás eran dos científicos excelentes, pero muy distintos, y de cada uno recibí no solo un trato exquisito sino también enseñanzas complementarias. Clay era una persona muy cercana y tenía una gran solidez conceptual y rigor experimental. Me enseñó electrónica, para fabricar los aparatos de registro, y los fundamentos de la biofísica de membranas. Esto me proporcionó una gran seguridad y me dotó de los conocimientos e independencia de juicio necesarios para montar posteriormente mi propio laboratorio en España y competir en un campo que, aunque cambió muy rápidamente, se consideraba apto solo para los «iniciados». En el laboratorio de Clay Armstrong viví los comienzos del clonado y la identificación molecular de los canales iónicos, una de las epopeyas más atractivas de la biología moderna. Entre 1980 y 1990 se identificaron los genes que codifican los canales regulados por ligando y el potencial de membrana. Recuerdo los seminarios en Woods Hole donde se describían los primeros trabajos hechos con canales recombinantes mostrando cómo muchas de la ideas que los biofísicos habían propuesto en las décadas previas se confirmaban molecularmente: poros hidrofílicos formados por hélices alfa transmembranarias, dominios cargados en el espesor de la membrana que actuaban como «sensores de voltaje», estructuras que actuaban como compuertas para cerrar y abrir el poro de conducción, etcétera. Esta revolución dio lugar a que los canales iónicos se convirtieran en proteínas reales y no imaginarias que participan en las vías de señalización celular igual que los receptores, enzimas o los factores de transcripción. La electrofisiología, ya en aquel tiempo muy simplificada gracias a las técnicas de *patch clamp*, dejo de ser la ciencia exclusiva, limitada a los amantes de los «cables», que había sido hasta entonces, y en muchos laboratorios comenzó a utilizarse

en combinación con la biología molecular o celular. En 1999 se otorgó el premio Lasker a Bertil Hille, Clay Armstrong y Roderick MacKinnon, tres representantes de la generación de biofísicos que llevaron el campo de los canales iónicos desde «la idea a la realidad».[3] Se especuló con la posibilidad de que ese mismo trío obtuviese el Premio Nobel de Fisiología y Medicina, pero no fue así. Unos años después, MacKinnon obtuvo el Premio Nobel de Química por sus estudios sobre la estructura tridimensional de los canales de potasio, compartido con Peter Agre, descubridor de los canales de agua o acuaporinas.

Rodolfo Llinás tenía una personalidad muy atractiva, pero el trato con él era normalmente distante. Conmigo fue siempre atento y en ocasiones afectuoso, quizá porque compartíamos la misma lengua y muchos rasgos culturales. Cada posdoctorando en su laboratorio trabajaba en una estructura cerebral distinta, pero todos investigábamos sobre las propiedades eléctricas intrínsecas de las neuronas. Esta idea, generada en gran parte por Llinás,[4] trataba de mostrar que las neuronas en las diferentes estructuras del sistema nervioso central tienen propiedades eléctricas distintas debido a las variaciones en el tipo y distribución de canales iónicos en sus membranas. De este modo, cada tipo celular integra de forma diferente la información que le llega. Hasta entonces, las neuronas se consideraban como elementos sumatorios pasivos en los que la señal de salida en cada caso dependía fundamentalmente de la morfología del árbol somatodendrítico. Las ideas de Llinás y de su laboratorio añadieron un nuevo nivel de complejidad en la integración neuronal y ayudaron a explicar fenómenos como la génesis de los ritmos neuronales que subyacen al sueño, la vigilia y otras muchas funciones cerebrales. Después de haber estado tres años con Clay Armstrong, la incorporación al laboratorio de Llinás no me supuso ningún problema, y en los pocos meses que estuve allí, trabajando diariamente entre doce y catorce horas, aprendí de Rodolfo a mirar la fisiología neuronal de forma diferente. Aunque siempre me he sentido neurofisiólogo, tomé por aquel entonces un gran respeto por el cerebro y decidí —para bien o para mal— investigar temas más específicos, en los niveles celular o molecular, y dejar la comprensión del órgano para las generaciones futuras. Con esta estancia en Nueva York, finalizada en mayo de 1983, se cerró el plan de formación posdoctoral iniciado en 1978. Recuerdo que en aquella época tenía prisas, no solo por volver a reunirme con mi mujer e hijas, que se habían quedado en Sevilla, sino para crear un grupo propio que consiguiese reputación internacional y, de ese modo, contribuir al desarrollo científico y social de mi país. Era una época crítica en la historia de España y la mayoría de los jóvenes profesionales mirábamos hacia el futuro llenos de ilusión.

Al volver a Sevilla en el otoño de 1983 inicié la tarea de montar, prácticamente desde la nada, el laboratorio de Biofísica Celular, ya que el equipo que habíamos adquirido antes de mi marcha a Estados Unidos se utilizaba en el laboratorio de Neurofisiología. Después de más de un año de espera, durante el que me forjé como docente impartiendo clases de Fisiología a alumnos de Medicina y en los que solicité ayudas a diferentes organismos, obtuve mis primeros proyectos como investigador principal de la Comisión Asesora para la Investigación Científica y Técnica (CAICYT) del Ministerio de Universidades e Investigación y de la Fundación Ramón Areces. Incorporé los primeros doctorandos al laboratorio (Lucía Tabares y Guillermo Álvarez de Toledo), al que poco después se unieron Juan Ureña y Antonio Castellano. Nuestro objetivo científico era aprovechar las técnicas electrofisiológicas



modernas (*patch clamp* y el registro intracelular en «rodajas» de tejido cerebral) para identificar canales iónicos en neuronas y en células endocrinas que realizasen funciones de relevancia fisiológica. Especialmente, nos interesaba investigar cómo en diferentes células secretoras los diversos estímulos se traducen en señales eléctricas que conllevan la liberación de las hormonas u otras sustancias transmisoras.

De entre los diferentes proyectos de aquella época destaca, por su influencia posterior en mi trayectoria investigadora, el que iniciamos sobre el cuerpo carotídeo en colaboración con el grupo de la Universidad de Valladolid dirigido por Constancio González, que a su vez había hecho el doctorado con Carlos Belmonte y realizado posteriormente una estancia en el laboratorio de Carlos Eyzaguirre en la Universidad de Utah. El cuerpo carotídeo es un pequeño órgano sensorial junto a la bifurcación de la arteria carótida cuya función fisiológica fundamental es detectar los cambios en los niveles de oxígeno y otros parámetros de la sangre —CO_2, pH y glucosa, ente otros— para activar reflejos cardiorrespiratorios adaptativos. En condiciones de hipoxemia, por ejemplo, la activación de cuerpo carotídeo da lugar a hiperventilación y activación simpática, lo que incrementa el oxígeno en la sangre y aumenta su aporte a los tejidos por el sistema circulatorio. El conocimiento del papel sensorial del cuerpo carotídeo se debe a los trabajos pioneros de Fernando de Castro y Cornelio Heymans. Este último obtuvo el Nobel de Fisiología y Medicina en 1938, pero no lo recibió hasta 1945, cuando acabó la Segunda Guerra Mundial. Posteriormente, el cuerpo carotídeo atrajo a numerosos investigadores, de entre los que destacó Carlos Eyzaguirre. Se demostró que las células sensoriales del cuerpo carotídeo, denominadas células glómicas, forman sinapsis «quimiosensoriales» con fibras nerviosas aferentes que terminan en el centro respiratorio del tronco cerebral. A pesar de estos avances significativos, a mediados de los ochenta la fisiología de las células glómicas era prácticamente desconocida debido, entre otras razones, a que son muy pequeñas (unas 10 a 12 micras de diámetro) y se dañan con las técnicas electrofisiológicas habituales. Por esas razones, nos parecieron células óptimas para aplicar en ellas las técnicas de *patch clamp*. Durante el año 1987 vino a mi laboratorio José Ramón López-López, doctorando de Constancio González, y en los meses que siguieron inauguramos un nuevo capítulo de la fisiología sensorial y respiratoria que ha tenido un alto impacto internacional. Publicamos un artículo en *Science*[5] en el que mostrábamos que las células glómicas son neuronas modificadas que producen potenciales de acción y que tienen canales de potasio regulados por la tensión de oxígeno. En trabajos posteriores conseguimos demostrar que las células glómicas son realmente elementos presinápticos que en respuesta a la hipoxia liberan transmisores que activan las fibras sensoriales aferentes. Este modelo de quimiotransducción fue confirmado por otros grupos de investigación tanto en el cuerpo carotídeo como en otros órganos quimiorreceptores. Por otra parte, la regulación de canales iónicos por el oxígeno mostró ser un fenómeno más general que en otras células cumple funciones diversas como el control del tono vascular o la contracción del *ductus arteriosus* tras el nacimiento.[6]

La investigación sobre el cuerpo carotídeo ha ocupado gran parte de la actividad de mi grupo durante los últimos treinta años. Fue de nuevo una circunstancia no prevista lo que me llevó a interesarme por este órgano y no otro. Los científicos normalmente «buscan» los problemas objeto de estudio pero en ocasiones se «encuentran» con ellos e incluso casi involuntariamente son «capturados» por un tema. En las etapas iniciales trabajé en

el cuerpo carotídeo obligado por el enorme campo sin explorar descubierto en el primer estudio experimental y porque nuestro laboratorio reunía, mejor que ningún otro, el capital humano y la tecnología necesarios para los estudios electrofisiológicos en las pequeñas células glómicas. Posteriormente, la necesidad de responder a las nuevas preguntas que iban surgiendo hizo que, casi sin darme cuenta, pasasen tres décadas. De hecho, no ha sido hasta fecha reciente cuando hemos podido responder con datos experimentales a algunas de las cuestiones básicas planteadas en 1988. A veces me pregunto cuál hubiese sido la evolución de mi grupo de no haberme «encontrado» con el cuerpo carotídeo.

La década de los ochenta no fue solo de despegue científico, sino también de maduración personal y profesional. A los pocos años de volver a Sevilla tuve una oferta de Carlos Belmonte para irme a Alicante, a la recién creada Facultad de Medicina. Aunque lo pensé seriamente, el plan no se materializó porque Diego Mir consiguió que se crease una cátedra de Fisiología para que me quedase en Sevilla. A los pocos meses de tomar posesión como catedrático (enero de 1986) vino a verme a Sevilla una persona extraordinaria, Roberto Fernández de Caleya, de quien no tenía conocimiento previo. Roberto había sido nombrado director de la Agencia Nacional de Evaluación y Prospectiva (ANEP) con el encargo de montar un sistema homologado internacionalmente de evaluación por pares de los proyectos de investigación presentados al Plan Nacional de Investigación Científica y Técnica. Su idea era nombrar a científicos encargados de las diferentes áreas (denominados «coordinadores») y que estos eligiesen a los evaluadores anónimos e hiciesen una propuesta razonada sobre la conveniencia o no de la financiación. Aunque me resistí un poco porque no quería desviarme de mi línea de producción científica, que ya iba por buen camino, Roberto me convenció porque me prometió instalar en mi despacho un telefax, invento que yo entonces desconocía, para no tener que viajar a Madrid con frecuencia. Ni me instalaron el telefax prometido ni pude evitar tener que viajar a Madrid y pernoctar varias veces al mes durante los tres años siguientes. Sin embargo, contribuir a la creación y desarrollo de la ANEP y tratar con Roberto y todos los compañeros (científicos de otras áreas, evaluadores, gestores y personal de administración) ha sido posiblemente la experiencia profesional más enriquecedora que he tenido. Las discusiones sobre los evaluadores y proyectos, las reuniones de las ponencias, los viajes al extranjero para evaluar las acciones integradas bilaterales, las estancias en la Residencia de Estudiantes del CSIC y otras muchas actividades estuvieron siempre impregnadas de alta calidad técnica y camaradería. Desde entonces mantengo esta época viva en mi recuerdo. Junto a la labor en la ANEP, tuve el privilegio de participar en numerosas comisiones que contribuyeron a la modernización del Fondo de Investigación Sanitaria y de la Investigación Biomédica Española. En este ambiente, la actividad gestora era casi tan creativa como la científica y, como consecuencia del buen hacer, la ANEP se convirtió en la institución española de mayor prestigio entre los investigadores. Es una pena que los mismos que impulsaron este proyecto no supieran llevar a cabo una reforma universitaria acorde con lo que la sociedad española necesitaba para modernizar las estructuras de I+D en nuestro país. La creación del Plan Nacional de I+D y de la ANEP multiplicó el número de grupos de investigación en España, lo que tuvo como efecto la creación de nuevas sociedades científicas inexistentes hasta entonces. Tuve una participación muy activa, y creo que importante, en la creación de la Sociedad de Biofísica de España, de la que fui miembro de su junta gestora, y de la Sociedad Española de Neurociencias, de la que fui socio fundador, vicepresidente y, posteriormente, presidente.

Mi grupo de investigación creció y maduró, con la presentación de las primeras tesis doctorales, la incorporación de nuevos doctorandos y algún posdoctorando y la marcha al extranjero de mis primeros discípulos. Con el cambio de la legislación universitaria, las cátedras clásicas se extinguieron y se crearon los nuevos departamentos. Fui elegido director de mi departamento en 1987, que en el nuevo diseño pasó a denominarse Departamento de Fisiología Médica y Biofísica, nombre que conserva en la actualidad. En aquella época aprobamos acuerdos, como la necesidad de que los nuevos profesores tuviesen estancias en centros extranjeros, que fueron fundamentales para que el departamento alcanzase el nivel de calidad que tiene actualmente, uno de los más altos de la Universidad de Sevilla.

Una ventaja colateral de mi estancia en la ANEP fue que, al finalizar el periodo reglamentario, fui «premiado» con una beca para pasar un año sabático en la Universidad de Stanford, en Palo Alto, California. Entre septiembre de 1991 y agosto de 1992 trabajé en el laboratorio de Richard Aldrich, en el Departamento de Fisiología Celular y Molecular de la Facultad de Medicina, ubicado en el recién creado Beckman Center, elegante edificio con magníficas instalaciones que reunía a la flor y nata de la investigación biomédica de Stanford. Rick Aldrich, a quien había conocido en mi época de posdoctorado, dirigía uno de los grupos más activos sobre el estudio de las relaciones entre la estructura y la función de los canales de potasio. Mi deseo era aprender biología molecular de canales iónicos al objeto de, al volver a España, intentar identificar los mecanismos moleculares responsables de la regulación de los canales de potasio por el oxígeno, fenómeno que ayudaría a completar el trabajo que habíamos hecho previamente en el cuerpo carotídeo. Mi conversión a biólogo molecular fue muy provechosa y placentera gracias a Rick y a los miembros de su laboratorio. Empecé desde cero a purificar ADN, hacer mutagénesis dirigida y a secuenciar. Para aplicar lo aprendido inicié un proyecto para descubrir las bases moleculares de la inactivación en los canales de potasio, un proceso que permite que los canales una vez abiertos dejen de conducir iones. La inactivación de canales iónicos tiene un valor funcional muy importante, ya que determina la duración del periodo refractario y la frecuencia de potenciales de acción en las células excitables. Curiosamente, la rapidez con la que este proceso ocurre puede variar hasta casi mil veces entre diferentes tipos de canales de potasio. Algunos canales se inactivan en un intervalo de entre 10 y 20 milisegundos, mientras que otros lo hacen en varios segundos. Comparando las secuencias de aminoácidos de los canales ya clonados observé que, aunque estaban muy conservadas, había un aminoácido localizado en la boca externa del poro conductor que cambiaba de una molécula a otra. Mostramos que mutando este aminoácido se generaban canales con cambios en la cinética de inactivación similar a la de los canales nativos, lo que representó un descubrimiento fundamental. Durante las semanas finales del sabático —mientras luchaba con el síndrome de abstinencia por haber dejado de fumar— escribí a toda velocidad un artículo que enviamos a la revista *Neuron*, y que fue rechazado por razones que todavía no he logrado entender. El mismo texto fue aceptado por una revista menos *fancy*[7] y, con el paso de los años, se convirtió en un clásico dentro de su campo. A pesar de que la revista ha dejado de publicarse, este trabajo sigue siendo uno de lo más citados de mi carrera profesional (~500 citas) y continuamente recibo peticiones de separatas en PDF de este. Evidentemente, el sistema de *peer review* tiene sus fallos y, en este caso, los editores de *Neuron* cometieron un claro error. Como la mayoría de los científicos, he tenido varios artículos rechazados, algunos injustamente, en revistas

de alto perfil; sin embargo, es difícil encontrar un sistema que funcione mejor que el de evaluación científica internacional. Mi confianza en él se ha acrecentado con los años. No obstante, pienso que, al igual que a los investigadores se nos evalúa según la calidad de nuestras publicaciones, las revistas deberían estar sometidas a un examen independiente de calidad técnica que las obligase a revisar y depurar permanentemente los procedimientos que siguen en su toma de decisiones.

El año sabático en Stanford no solo fue fructífero profesionalmente, sino que toda la familia disfrutó de experiencias muy enriquecedoras que todavía recordamos con nostalgia. Elizabeth trabajó sobre las bases genéticas del autismo, lo que le permitió posteriormente hacer en su laboratorio investigación y diagnóstico genético del síndrome X frágil, y mis hijas cursaron un año completo de *high school* con todos los ingredientes del *American way of life*. Tuve que viajar dos veces a Sevilla desde San Francisco para participar en reuniones con las autoridades autonómicas en relación con la creación del Laboratorio Andaluz de Biología (LAB). Este era un proyecto ideado por Enrique Cerdá, catedrático de Genética de la Universidad de Sevilla, al que, como joven promesa local, fui invitado junto a otros tres compañeros que trabajaban en instituciones extranjeras: Miguel Beato y José Campos Ortega en Alemania y Manuel Perucho en Estados Unidos. El objetivo era crear en Sevilla un centro de investigación biológica de primer nivel, con normas de funcionamiento similares a las de centros europeos prestigiosos como el EMBO Lab en Alemania o los centros del MRC en Reino Unido. Con un ambiente muy ilusionante, y del que aprendí mucho, tuvimos varias reuniones y conseguimos financiación para construir un edifico excelente en el campus de lo que iba a ser la Universidad Pablo de Olavide, que en aquella época se diseñaba pensando en un modelo universitario más moderno y alternativo a lo que existía hasta entonces. Aunque nunca recibimos explicaciones formales, el proyecto fue cancelado por las autoridades y el edificio quedó vacío durante varios años. Posteriormente, el edificio, ya construido y equipado gracias a nuestro esfuerzo —sobre todo el de Enrique Cerdá—, albergó el Centro Andaluz de Biología del Desarrollo, que acogió a un puñado de jóvenes investigadores que, afortunadamente, está desarrollando una excelente labor. Miguel Beato pudo cumplir su proyecto en Barcelona, donde, con la ayuda de las autoridades autonómicas, creó el Centro de Regulación Genómica (CRG), uno de los institutos más prestigiosos en la actualidad.

La década de los noventa fue para mi grupo de investigación la de homologación y reconocimiento internacional. Con la ayuda de Antonio Castellano y María Dolores Chiara montamos en el laboratorio las técnicas de biología molecular y ampliamos los objetivos científicos del grupo. Tuve numerosas invitaciones para asistir a *workshops*, escribir revisiones y formar parte de consejos editoriales de revistas internacionales, además de recibir algunos premios y reconocimientos por mi labor. Algunos de mis primeros doctorandos habían vuelto de su estancia posdoctoral y estaban generando sus propios grupos de investigación, lo que indicaba que la semilla de la investigación experimental había echado raíces. Durante este periodo ampliamos nuestro trabajo sobre la fisiología de las células glómicas, mostrando su naturaleza dopaminérgica,[8] y revelamos la existencia de canales de calcio regulados por el oxígeno en células musculares lisas del árbol vascular.[9] Clonamos el gen de una nueva subunidad reguladora de canales de potasio[10] y llevamos a cabo un trabajo

intenso sobre la regulación por oxígeno de canales recombinantes con la idea de identificar los dominios moleculares responsables de la sensibilidad al oxígeno. Este esfuerzo no se vio recompensado con resultados robustos y reproducibles. La ingente cantidad de datos experimentales obtenidos solo se publicó en forma de resúmenes para congresos y Patricia Ortega Sáenz, la doctoranda involucrada en este, tras varios años de trabajo, tuvo que comenzar un nuevo proyecto de tesis doctoral.

A mediados de 1997 ocurrió un hecho insólito que fue trascendente para el devenir del grupo de investigación. Juan Negrín, neurocirujano de Nueva York e hijo del último presidente de la Segunda República Española, vino a Sevilla a conocerme porque le interesaba nuestro trabajo sobre el cuerpo carotídeo, ya que tenía varios pacientes a los que había extirpado dicho órgano para tratar los ataques asmáticos. Durante la conversación tratamos de la cirugía de la enfermedad de Parkinson y la posibilidad de utilizar el cuerpo carotídeo en terapia celular como órgano donante de dopamina. Tras esta entrevista pusimos en marcha un proyecto de investigación preclínica basado en el implante de células del cuerpo carotídeo en el estriado de ratas parkinsonianas. Los resultados, muy satisfactorios, fueron publicados en *Neuron*[11] y tuvieron un impacto internacional científico —e incluso mediático— importante, ya que la enfermedad de Parkinson es una afección muy frecuente que todavía no cuenta con un tratamiento eficaz. Pocos meses después llevamos a cabo un trabajo similar en monos, con buenos resultados, realizado en colaboración con investigadores de la Clínica Universitaria de Pamplona. Como consecuencia de ello, la investigación en la enfermedad de Parkinson se convirtió, junto al estudio de las respuestas celulares a la hipoxia, en una de las líneas de trabajo centrales de mi grupo de investigación que ha perdurado hasta la actualidad.

En la misma época en que iniciamos el trabajo sobre la enfermedad de Parkinson, fui invitado por Gabriel Pérez Cobo, entonces director gerente del Hospital Universitario Virgen del Rocío (HUVR) de Sevilla, a trasladarme con mi equipo a dicho centro, lejos del lugar donde yo había trabajado desde mi época de alumno interno, para poner en marcha un proyecto de desarrollo científico del hospital. Este era un centro que tenía prestigio en Sevilla debido a su alto nivel asistencial pero cuyo perfil académico hasta el momento había sido bajo. Decidí apostar por este proyecto por mi convencimiento de la necesidad que había en España de contar con instituciones donde la investigación biomédica básica se desarrollase en un entorno hospitalario, favoreciendo la transferencia de conocimientos a la actividad clínica y viceversa, permitiendo que los problemas médicos más importantes pudiesen ser investigados en el laboratorio con modelos animales y celulares. Para trasladarnos al hospital se fundó el Laboratorio de Investigaciones Biomédicas (LIB), formado por un grupo que llegó a tener más de cuarenta miembros y en el que estaban compañeros del departamento como Juan Ureña, Juan José Toledo, Antonio Castellano y Miriam Echevarría. Además de dirigir el LIB, mi plaza incluía el nombramiento de coordinador general de Investigación del HUVR. Poniendo todo nuestro empeño e ilusión iniciamos un programa científico (seminarios, reuniones científicas y colaboraciones con grupos clínicos) así como de captación de recursos externos que en pocos años transformó el ambiente del hospital. Con la incorporación de nuevos investigadores posdoctorales, en particular José I. Piruat y Alberto Pascual, y la colaboración con Óscar Pintado, director del Centro de Investigación y Experimentación

Animal de la Universidad de Sevilla, los objetivos científicos de mi grupo se ampliaron hacia la biología molecular y la generación de animales modificados genéticamente, lo que permitió que produjéramos algunos avances importantes en fisiología celular. En paralelo, iniciamos la realización de ensayos clínicos en pacientes parkinsonianos gracias, entre otras ayudas, a una extraordinaria de la Fundación Juan March por un importe de unos 150 millones de pesetas, lo que en aquella época fue uno de los *grants* más importantes concedido a un grupo de investigación en España. Entre 2002 y 2005 llevamos a cabo dos ensayos clínicos, con seis pacientes cada uno, a los que se extirpaba un cuerpo carotídeo y en el mismo acto quirúrgico se trasplantaba dicho órgano troceado dentro de los núcleos basales del cerebro (caudado y putamen) a través de una cánula implantada por cirugía estereotáctica. La selección de los pacientes, los implantes y el seguimiento clínico lo hicimos con Ventura Arjona y Adolfo Mínguez, eminentes neurocirujano y neurólogo, respectivamente, del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada. Los estudios de neuroimagen (tomografía por emisión de positrones) se hicieron en Londres en el grupo de David Brooks, del Hammersmith Hospital. La colaboración con el grupo de Granada, muy provechosa científicamente y agradable desde el punto de vista humano, se inició de forma casual y sencilla. En una reunión sobre política científica andaluza me senté junto a alguien a quien no conocía y que resultó ser Ventura Arjona, que me preguntó a qué me dedicaba. Le comenté brevemente en qué trabajaba y la necesidad que tenía de encontrar un lugar donde hacer ensayos de terapia celular antiparkinsoniana en humanos. Él me respondió: «Acabas de encontrarlo». Los ensayos en humanos me acercaron de nuevo al trato con los pacientes y al conocimiento de primera mano de la enfermedad, lo que reafirmó todavía más mi convencimiento sobre la necesidad de que en los grandes hospitales existiesen centros de primer nivel dedicados a la investigación médica y al desarrollo tecnológico. Los resultados de los dos ensayos en humanos fueron satisfactorios,[12] pero inferiores a los que habíamos observado previamente en los ensayos preclínicos en ratones o incluso en monos. Entre los factores pronósticos que podían afectar más al resultado clínico detectamos como muy determinantes la edad de los pacientes y la cantidad de tejido que se trasplantaba. Por ello decidimos interrumpir la realización de ensayos en pacientes e iniciar un proyecto básico con el objetivo de expandir el cuerpo carotídeo in vitro antes del trasplante y de este modo incrementar la cantidad de tejido disponible.

Una de las propiedades más interesantes del cuerpo carotídeo adulto es que, a pesar de ser un órgano de origen neural, crece de tamaño en condiciones de hipoxia crónica para incrementar las aferencias estimuladoras al centro respiratorio y favorecer la aclimatación (adaptación) a la situación de falta de oxígeno. La plasticidad del cuerpo carotídeo se conoce desde hace décadas, pero los mecanismos de los que depende no se han revelado hasta fecha reciente. Como la necesidad agudiza el ingenio, se nos ocurrió que posiblemente el crecimiento del cuerpo carotídeo dependía de la existencia de células madre o progenitoras que se mantenían activas en la vida adulta. De ser así, estas células podrían utilizarse para obtener mayor cantidad de tejido y mejorar la eficacia de los trasplantes. A finales de 2001, mucho antes del desafortunado e innecesario salto de las células madre a la palestra política española y andaluza, Ricardo Pardal, doctorando que acababa de defender su tesis, se marchó al laboratorio de Sean Morrison, en Ann Arbor (Míchigan), para hacer un posdoctorado y trabajar en células madre del sistema nervioso periférico. Ricardo hizo

un trabajo excelente en Estados Unidos y, a su vuelta a mi laboratorio como investigador del programa Ramón y Cajal, iniciamos un proyecto que, junto a otros compañeros, nos llevó a descubrir una población de células madre en el cuerpo carotídeo, las primeras identificadas en el sistema nervioso periférico. Estas células son responsables del crecimiento del cuerpo carotídeo en condiciones de hipoxia.[13]

Durante la primera década del siglo XXI, coincidiendo con nuestra incorporación al HUVR, se incrementó mi participación en comisiones e iniciativas dirigidas al desarrollo de la investigación biomédica en el sistema sanitario español. En el año 2002, junto con Federico Mayor Meléndez y el auspicio de la Fundación Española para la Ciencia y la Tecnología, organicé un encuentro en la Universidad de Sevilla para tratar sobre el concepto y desarrollo del hospital universitario que tuvo muy alta calidad y nivel de participación. Este evento concluyó con un manifiesto destacando la necesidad de potenciar el hospital universitario como institución básica en la investigación traslacional. Durante varios años, en un periodo en el que ejercieron su cargo varias ministras de partidos políticos diferentes, fui vocal del Consejo Asesor del Ministerio de Sanidad dirigido por Juan Rodés. Los miembros del consejo ejercimos una presión importante para que el Ministerio de Sanidad impulsase el desarrollo de los institutos de investigación sanitaria, ubicados junto a los hospitales universitarios, idea que sirvió de modelo para la creación del Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS) que dirijo en la actualidad.

Cuando la ayuda de la Fundación Juan March llegaba a su fin, con la triste noticia de la cancelación del programa que solo se había extendido a dos investigadores más, tuve la visita de Pedro García Barreno, catedrático de Cirugía de la Universidad Complutense de Madrid, que en nombre de la Fundación Botín vino a mi laboratorio para saludarme y ofrecerme apoyo económico para mi grupo de investigación con una oferta que me pareció estratosférica. Me ofreció formar parte de un programa en el que, además de la ayuda económica, tendría el apoyo de personal especializado en la transferencia del conocimiento y la tecnología al campo empresarial. Este fue sin duda otro de los momentos críticos de mi vida profesional. Nunca antes había tenido un tratamiento tan especial, ni se habían puesto a mi disposición posibilidades de progreso tan importantes sin pedir nada a cambio, solo que siguiese trabajando en lo que me gustaba como había hecho hasta entonces. Al final de esta ayuda, que duró cinco años, tuve el privilegio de ser nombrado Investigador Botín hasta 2017, siendo esta la razón por la que he sido invitado a escribir este texto autobiográfico. Durante estos años, la ayuda Botín ha sido esencial para mi grupo, y gracias a ella hemos podido avanzar en el desarrollo de nuevos modelos de ratones modificados genéticamente, mantener proyectos de transferencia tecnológica y alcanzar metas científicas que no hubiésemos podido lograr de otro modo. El proyecto de transferencia tecnológica en el que inicialmente pusimos más empeño fue la expansión del cuerpo carotídeo in vitro, con el objetivo de realizar un nuevo ensayo clínico en pacientes parkinsonianos. Desde el punto de vista científico, el proyecto se ha desarrollado satisfactoriamente, lo que nos está permitiendo la publicación de resultados relevantes relativos al mecanismo de crecimiento de cuerpo carotídeo en respuesta a la hipoxia.[14] En meses recientes, este proyecto ha culminado con la identificación del mecanismo sensor de oxígeno por los quimiorreceptores arteriales —¡lo que llevamos persiguiendo desde hace más de veinticinco años!—.

Sin embargo, desde una perspectiva tecnológica, no ha progresado con la velocidad que hubiésemos deseado, ya que, por razones que desconocemos, el crecimiento y la diferenciación dopaminérgica de las colonias de células madre obtenidas de tejido humano no se produce con la intensidad requerida. Junto a este proyecto desarrollamos otro basado en un trabajo previo donde demostramos que el factor trófico GDNF es absolutamente necesario para el mantenimiento de la vía nigroestriatal del adulto —las neuronas que se destruyen en los enfermos de Parkinson—.[15] El objetivo tecnológico de este proyecto es poner a punto métodos (farmacológicos y/o electrofisiológicos) que permitan activar la producción endógena de GDNF; esto incrementaría la protección de las neuronas de la sustancia negra y, eventualmente, ralentizaría la progresión de la enfermedad.

Durante las últimas dos décadas, nuestro grupo ha desarrollado varias patentes y, salvo las relacionadas con la creación de animales modificados genéticamente, ninguna se ha materializado en un producto de interés tecnológico. Aunque desde hace varios años ha anidado en el entorno académico la necesidad de «transferir» los resultados de la investigación a la práctica médica o al mundo de la empresa, generalmente se olvida que este proceso es, en todo el mundo, muy ineficaz y que la mayoría de los proyectos, bien enfocados y diseñados, fracasan. He conocido de cerca varios proyectos empresariales multimillonarios dirigidos a la búsqueda de nuevas terapias para las enfermedades neurodegenerativas que, a pesar de estar basados en datos preclínicos sólidos, han fallado en la fase de transferencia clínica. Naturalmente, la respuesta a esta situación es la que se da en otros países: invertir pacientemente en investigación, investigar más y mejor y potenciar la gestión y transferencia de la máxima calidad. En España hacemos ya una ciencia cualitativamente comparable a la de otros países desarrollados y, por tanto, no hay razón para pensar que no vayamos a ser exitosos en la transferencia tecnológica. Si la corrupción política y los separatismos oportunistas no hunden nuestro país, y somos capaces de dar un paso más en su modernización, en pocos años estaremos homologados internacionalmente en este campo como ya lo estamos en otras facetas de la ciencia y la cultura.

Próximo a la conclusión de esta reseña autobiográfica, he de referirme al proyecto institucional que he coordinado durante los últimos años. Mi vida académica ha estado muy ligada a la generación de instituciones que permitiesen la realización de investigación en nuestro entorno, quizá porque, como les ocurrió a otros miembros de mi generación, nuestro objetivo no era solamente hacer ciencia y descubrimientos importantes sino también contribuir a la transformación y progreso de la sociedad en la que nacimos y nos desarrollamos. Durante los siete años que fui director del Departamento de Fisiología Médica y Biofísica puse todo mi empeño en que se modernizase y convirtiese en un centro de investigación internacional. Posteriormente, trabajé para la creación del LAB (hoy Centro Andaluz de Biología del Desarrollo) y la construcción del edificio que alberga actualmente el CABIMER (Centro Andaluz de Biología Molecular y Medicina Regenerativa). Finalmente, hace ya cuatro años pude ver cómo conseguíamos poner en marcha el Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), proyecto por el que me trasladé al HUVR y que he tenido el privilegio de coordinar y dirigir durante los últimos diez años. El IBiS fue concebido como un centro de investigación biomédica multidisciplinar y mutiinstitucional, ubicado junto a un gran hospital universitario, con el objetivo de desarrollar programas de investigación

traslacional sobre las patologías más prevalentes en la población. Tras mi incorporación al HUVR, coordiné un grupo de investigadores con el que inicié los pasos necesarios para poner en marcha el proyecto. En unos pocos años, no solo conseguimos crear el IBiS (2006) y ser el segundo centro acreditado por el Instituto de Salud Carlos III (2008), sino también construir un excelente edificio, dotado de las infraestructuras más modernas, que desde 2011 funciona con más de doscientos cincuenta investigadores permanentes. Durante los últimos meses, estando ya en una etapa en la que contemplo la obra institucional finalizada, dudo con frecuencia de si el esfuerzo realizado, que ha sido muy intenso, exigente y no siempre en sintonía con la demagogia constitutiva en algunas autoridades de nuestro entorno, ha merecido la pena. Naturalmente, siento una profunda satisfacción por haber contribuido a la creación en Sevilla, y en el campus del HUVR, de un espacio donde poder hacer investigación de primera calidad. No obstante, me decepciona constatar que no será posible que el IBiS —ni ningún otro centro de investigación español— alcance y mantenga un verdadero nivel competitivo internacional si no se modernizan las instituciones de nuestro entorno y se implantan en ellas modos de gobierno profesionales y despolitizados, similares a los que existen en los institutos equivalentes en los países desarrollados de Europa. Nuestros centros asistenciales y de investigación deben ser dinámicos e independientes y regirse por los principios del mérito, la eficiencia y la rendición de cuentas. España necesita una nueva modernización que adecue nuestras normas de convivencia a los cambios que se han ido produciendo durante las últimas décadas. En el campo específico de la investigación científica, lo mucho que hemos conseguido debería servirnos de estímulo para hacer realidad lo que todavía nos queda por hacer.

Una vez completada esta autobiografía científica, creo que queda explicado por qué me considero afortunado. El esfuerzo, muy exigente, ha sido recompensado, con creces, por una actividad profesional estimulante, independiente y creativa y, sobre todo, por el aprecio de mis discípulos, colegas y de la sociedad española y andaluza (incluidos mis paisanos). Mi formación y actividad científica han sido posibles gracias al apoyo de mi familia y mis mentores. Mi mujer y mis hijas me han acompañado en mi carrera profesional y conjuntamente nos hemos enriquecido compartiendo nuestras ilusiones y proyectos individuales. Honestamente, creo que hemos demostrado que, aunque con esfuerzo y generosidad —sobre todo por parte de ellas—, es perfectamente posible conciliar la vida profesional con la familiar. Mi vocación científica ha ido siempre acompañada de dedicación a la docencia universitaria (especialmente dirigida a alumnos de Medicina) y a la formación de doctorandos y posdoctorandos. Por razones de oportunidad, algunos de ellos aparecen citados en esta autobiografía, aunque todos han sido igualmente importantes. Con los doctorandos y posdoctorandos he compartido muchas horas de mi vida, y ello queda reflejado en nuestras publicaciones, lo más preciado de mi trabajo profesional. Mi labor docente e investigadora la he desarrollado en ambientes académicos, especialmente en la Universidad de Sevilla, el alma máter de la que siempre he recibido apoyo y a la que tengo el privilegio de pertenecer.

Referencias bibliográficas citadas en el texto

1. J. López Barneo, C. Darlot, A. Berthoz y R. Baker, «Neuronal activity in the prepositus nucleus correlated with eye movements in the alert cat», en *J Neurophysiol*, vol. 47, 1982, pp. 329-352.

2. J. López Barneo y C. M. Armstrong, «Depolarizing response of rat parathyroid cells to divalent cations», en *J Gen Physiol*, vol. 82, 1983, pp. 269-294.

3. B. Hille, C. M. Armstrong y R. MacKinnon, «Ion channels: from idea to reality», en *Nat Med*, vol. 5, 1999, pp. 1105-1109.

4. R. R. Llinás, «The intrinsic electrophysiological properties of mammalian neurons: insights into central nervous system function», en *Science*, vol. 242, 1998, pp. 1654-1664.

5. J. López Barneo, J. López-López, J. Ureña, y C. González, «Chemotransduction in the carotid body: potassium current modulated by pO2 in type I chemoreceptor cells», en *Science*, vol. 241, 1998, pp. 580-582.

6. E. K. Weir, J. López Barneo, K. Buckler y S. Archer, «Acute Oxygen Sensing», en *New Engl J Med*, vol. 353, 2005, pp. 1042-1055.

7. J. López Barneo, T. Hoshi, S. Heinemann y R. W. Aldrich, «Effect of external cations and mutations in the pore region on C-type inactivation of *Shaker* potassium channels», en *Recept Channels*, vol. 1, 1993, pp. 61-71.

8. J. Ureña, R. Fernández-Chacón, A. Benot, G. Álvarez de Toledo y J. López Barneo, «Hypoxia induces voltage-dependent Ca2+ entry and quantal dopamine secretion in carotid body glomus cells», en *PNAS*, vol. 91, 1994, pp. 10208-10211.

9. A. Franco-Obregón, J. Ureña J. y López Barneo, «Oxygen-sensitive calcium channels in vascular smooth muscle and their possible role in hypoxic arterial relaxation», en *PNAS*, vol. 92, 1995, pp. 4715-4719.

10. A. Castellano, M. D. Chiara, B. Mellström, A. Molina, F. Monje, J. R. Naranjo y J. López Barneo, «Identification and functional characterization of a K+ channel alpha-subunit with regulatory properties specific of brain», en *J Neurosci*, vol. 17, 1997, pp. 4652-4661.

11. E. F. Espejo, R. J. Montoro, J. A. Armengol y J. López Barneo, «Cellular and functional recovery of parkinsonian rats after intrastriatal transplantation of carotid body cell aggregates», en *Neuron*, vol. 20, 1998, pp. 197-206.

12. A. Mínguez-Castellanos, F. Escamilla-Sevilla, G. R. Hotton, J. J. Toledo-Aral, A. Ortega-Moreno, S. Méndez-Ferrer, J. M. Martín-Linares, M. J. Katati, P. Mir, J. Villadiego, M. Meersmans, M. Pérez-García, D. J. Brooks, V. Arjona y J. López Barneo, «Carotid body autotransplantation in Parkinson disease: A clinical and PET study», en *J Neurol Neurosurg Psychiat*, vol. 78, 2007, pp. 825-831.

13. R. Pardal, P. Ortega-Sáenz, R. Durán y J. López Barneo, «Glia-like stem cells sustain physiologic neurogenesis in the adult carotid body», en *Cell*, vol. 131, 2007, pp. 364-377.

14. A. Platero-Luengo, S. González-Granero, R. Durán, B. Díaz-Castro, J. I. Piruat, J. M. García-Verdugo, R. Pardal y J. López Barneo, «An O2-sensitive glomus cell-stem cell synapse induces carotid body growth in chronic hypoxia», en *Cell*, vol. 156, 2014, pp. 291-303.

15. A. Pascual, M. Hidalgo-Figueroa, J. I. Piruat, C. O. Pintado, R. Gómez-Díaz y J. López Barneo, «Absolute requirement of GDNF for adult catecholaminergic neuron survival», en *Nat Neurosci*, vol. 11, 2008, pp. 755-761.

LAURA M. LECHUGA GÓMEZ

DIAGNOSTICAR CON LUZ: OBJETIVO DE UNA VIDA

11

Sinopsis

La interrelación entre ciencia y tecnología siempre ha sido una de las principales bases del progreso del conocimiento humano, con numerosos ejemplos presentes en nuestra sociedad y en nuestra vida cotidiana. De igual modo que el mundo de la electrónica convencional sufrió una revolución con la aparición del primer transistor de efecto de campo (FET) en 1947, el de la sensorística se ha visto favorecido por la microelectrónica y las microtecnologías y, más recientemente, por la nanotecnología, que ha permitido la fabricación de dispositivos sensores de reducido tamaño y altas prestaciones. Es un ámbito todavía en gran expansión y en un futuro no muy lejano dispondremos de nanosensores a demanda que se conectarán a nuestros teléfonos móviles para conocer en cuestión de segundos nuestro estado de salud, la contaminación de nuestros alimentos o cualquier alteración medioambiental. Y es precisamenmte en el desarrollo tecnológico de dispositivos biosensores donde se han centrado los casi veintiocho años de mi actividad científica, sin olvidar en ningún momento sus aplicaciones sociales y enfocando dicho desarrollo en función de estas.

Los biosensores son dispositivos capaces de detectar en tiempo real, sin necesidad de marcadores fluorescentes o radioactivos y con una alta sensibilidad y selectividad, todo tipo de sustancias químicas y biológicas. Un biosensor está integrado por un receptor biológico (como anticuerpos, enzimas, sondas de ADN, células, etcétera) preparado para detectar específicamente una sustancia y un transductor físico capaz de detectar la reacción de reconocimiento biomolecular en el mismo momento en el que se produce y traducirla en una señal cuantificable. Las técnicas habituales de análisis suelen ser laboriosas, lentas, caras y muchas requieren su uso por personal especializado. Frente a ellas, los dispositivos biosensores ofrecen la posibilidad de realizar un diagnóstico con muestras muy reducidas de fluidos corporales, a partir de los cuales se obtiene una detección específica en tiempos muy cortos, con gran precisión y sensibilidad.

Existen diversos tipos de biosensores, pero mi trabajo se ha centrado fundamentalmente en biosensores nanofotónicos (plasmónicos y basados en óptica integrada de silicio) y optonanomecánicos, debido a sus altas prestaciones al hacer uso de la forma particular en que se transmite la luz en el interior de los circuitos ópticos. Los sensores preferentemente se fabrican con tecnología microelectrónica, lo que permite la fabricación de decenas, incluso miles, de dispositivos para la detección simultánea de múltiples sustancias. Uno de los principales objetivos de mi trabajo ha sido conseguir dispositivos de alta sensibilidad y miniaturizables para su integración en plataformas tipo *lab-on-a-chip*, desarrollados con tecnología propia, así como la transferencia tecnológica de los resultados, con especial interés en desarrollos científico-tecnológicos que pudieran transformase en productos de interés para el entorno socioeconómico.

Como resultado de mi actividad en todos estos años, considero que he realizado un trabajo pionero tanto en España como a nivel internacional referido a la implementación de tecnología biosensora nanofotónica innovadora haciendo hincapié en la demostración de su utilidad en el diagnóstico descentralizado.

Mi labor científica siempre ha estado, está y estará vinculada a conseguir un mayor desarrollo tecnológico, entendiendo como «tecnología» la vertiente de la «ciencia» que tiene como meta principal la consecución de resultados cuya aplicación, a medio y largo plazo, redunden en un beneficio social generalizado.

Los principios

Nací en Sevilla una lluviosa noche de las Navidades de 1962, poco antes de la medianoche, de padre perteneciente a la Armada Española y madre modista. Mis primeros años de vida transcurrieron en esta luminosa ciudad antes de trasladarnos a Cádiz, una ciudad del sur rodeada de mar y con unas increíbles playas y relajada forma de vida. Toda mi educación, desde los cinco años hasta la entrada en la universidad, transcurrió en dos colegios católicos femeninos, algo poco habitual en la época de mi adolescencia, en la que la mayoría de mis amigos ya acudían a colegios o institutos de educación pública. La educación y disciplina del colegio era muy estricta, pero el colegio contaba con un profesorado laico muy activo y motivado. Mi principal recuerdo del colegio es la importante transmisión de los valores del trabajo, el esfuerzo y el estudio superior como principal meta a conseguir. Algunos de mis más entusiastas profesores en el bachillerato desaparecieron en uno de los días de clase habitual y se convirtieron en los primeros diputados socialistas en la recién instaurada democracia española. La educación en aquel colegio religioso contrastaba en gran medida con la forma de vida andaluza, alegre y abierta.

Vivir en aquella época en una de las ciudades más pequeñas y deprimidas del país también significaba que las opciones de elección en la pequeña universidad con la que entonces contaba Cádiz eran muy escasas. La imposibilidad de poder acceder a otras universidades más importantes por limitaciones económicas me impuso una limitada elección en la carrera a estudiar, ya que las únicas opciones viables eran o Químicas o Medicina. Opté por Químicas. Y la llegada a la universidad desde un colegio católico de entonces supuso un importante cambio vital, en un tiempo en el que la presencia femenina en carreras de ciencias era todavía muy escasa. La Facultad de Químicas era de reciente creación y tanto el profesorado como los laboratorios donde hacíamos nuestras prácticas estaban por «estrenar», por lo que no guardo ningún recuerdo especial de ninguno de mis profesores como grandes formadores o inspiradores, con la excepción de un catedrático en Química Técnica, el doctor Manolo Galán, que llegó a ser uno de los pioneros en la transferencia del conocimiento desde la universidad a la empresa con gran éxito y con el que he seguido manteniendo una estrecha relación desde entonces.

Durante los años de la universidad participé activamente en su vida política, siendo alumna representante en todos sus órganos de gobierno, primero en la facultad y luego en la universidad. Eran años de cambios, donde por primera vez se daba a los alumnos la posi-

bilidad de participar en el claustro universitario y elegir al rector. Con una militancia muy activa, conseguimos unificar los votos de todos los alumnos de la Universidad de Cádiz y apoyar en bloque al candidato a rector que más promesas de cambios nos había hecho. Muy poco tiempo después, y ya comenzando mi tesis doctoral, dejé la militancia política para siempre, al comprobar lo poco agradecido de esa tarea a pesar del empeño y dedicación, los intereses políticos y, sobre todo, por la pobre intelectualidad que la rodeaba y que, en esos momentos, habría podido contribuir a una mejor universidad.

Mi inicio en la investigación

En los últimos años de mis estudios universitarios entré en el Departamento de Inorgánica de la Facultad de Químicas con una beca de alumna colaboradora y comenzó mi primera incursión en el mundo de la investigación. Estando allí surgió mi convicción de realizar una tesis doctoral como etapa necesaria e imprescindible en mi formación antes de decidir si me dedicaría a la investigación científica o al trabajo en empresa. Mi trabajo allí se centraba en la búsqueda de nuevos fármacos antitumorales utilizando compuestos de coordinación estereoisómeros similares al fármaco antitumoral de cisplatino (cis-diaminodicloroplatino). Este tipo de compuestos ha constituido una de las familias de fármacos más empleados en quimioterapia para el tratamiento de tumores sólidos, con una alta efectividad pero, al mismo tiempo, con importantes y devastadores efectos secundarios. Actualmente, más de 700.000 pacientes recién diagnosticados de cáncer siguen recibiendo este tratamiento en Europa. El mecanismo de estos complejos se basa en su unión al ADN celular, causando apoptosis. Mi tarea consistía en la síntesis, caracterización y separación en sus isómeros del ion complejo bis(meso-2,3-butilendiamina) oxalato cobalto (III) para elegir posteriormente la estructura con más acusada actividad neoplásica y con menores efectos secundarios potenciales. Contábamos con laboratorios para la síntesis química y estabulario para la evaluación in vivo de los compuestos preparados. En esta etapa conocí de cerca el intenso trabajo que supone la investigación científica y las muchas horas de laboratorio necesarias para la síntesis química y la caracterización de materiales. Sin embargo, el trabajo repetitivo y similar a lo ya desarrollado no me resultó especialmente estimulante y creativo desde un punto de vista científico, lo que me motivó a buscar otras temáticas y horizontes.

A través de uno de los profesores más activos de la facultad y que pertenecía a mi departamento, el doctor Rafael García Roja, se me ofreció la posibilidad de una entrevista en un centro de investigación de muy reciente creación en Madrid, el Centro Nacional de Microelectrónica (CNM) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). El CNM era una iniciativa pionera del Gobierno español del año 1984 para paliar el gran retraso existente en el campo de la microelectrónica en España y contó con una importante inversión para la época (cerca de 3.000 millones de pesetas). En aquel momento, la microelectrónica estaba considerada como uno de los sectores de desarrollo prioritario y se pretendía contribuir de esa forma a la modernización de la ciencia española. El diseño de circuitos integrados, la tecnología de fabricación de chips y el estudio de nuevos materiales semiconductores eran algunos de los objetivos de aquel nuevo centro. En 1988, año en el que yo me incorporo a realizar mi tesis doctoral, trabajaban en

el CNM, cuya sede se repartió entre Barcelona y Madrid, más de cien personas, dirigidas por los profesores Francisco Serra, Emilio Lora-Tamayo y Fernando Briones. El objetivo del centro era la realización de prototipos y la colaboración con la industria. Aunque en el campo de la microelectrónica se tiende a conseguir la mayor miniaturización posible de los circuitos electrónicos, con menor consumo y mayor rapidez, existen muchas otras aplicaciones concretas donde la microelectrónica es necesaria pero no requiere circuitos integrados. Entre estas aplicaciones estaban los sensores, que en aquel momento ni siquiera se fabricaban en España.

Sensores químicos de gases y biosensores con tecnología de semiconductores III-V (1988-1992)

Con mi tesis doctoral se abrió en el CNM una nueva línea de investigación sobre dispositivos sensores y biosensores, constituyendo una línea pionera dentro del panorama científico nacional de esa época. Apoyándonos en diseños propios y en procesos de fabricación abordables en nuestros laboratorios, se diseñaron y fabricaron novedosos sensores de gases basados en diodos de barrera Schottky producidos mediante la unión de metales catalíticos (Pd, Pt e Ir a escala nanométrica) con semiconductores de arseniuro de galio. Se puso en evidencia que la estructura semiconductora empleada debía ser de bajo dopado y excelente calidad estructural, por lo que se fabricó mediante técnicas de ultra-alto vacío de crecimiento epitaxial molecular (MBE). Los dispositivos detectan el gas adsorbido mediante la variación de sus características eléctricas en la interfaz entre el metal nanoestructurado y el semiconductor de bajo dopado, siendo este un análisis rápido y preciso de la concentración del gas a determinar y pudiendo detectar hasta muy pocas partes por millón (ppm). La realización de este trabajo supuso un gran reto intelectual y profesional, ya que el proyecto tenía principalmente un componente de física de materiales e ingeniería microelectrónica y, evidentemente, mi formación en esas materias era muy escasa, por no decir inexistente. Fue necesario poner a punto los métodos de fabricación de los dispositivos, incluyendo técnicas de vacío como deposición de metales asistida por bombardeo de electrones o sublimación, y dominar todas las técnicas de caracterización estructural y eléctrica de los diversos pasos de fabricación y montaje de mi primer prototipo, un pequeño reactor para la evaluación de los sensores en una atmósfera gaseosa controlada conectado a un sofisticado panel de dilución y control de gases.

Durante mi tesis conseguí crear unos novedosos sensores de H_2 y NH_3, así como realizar su exhaustiva caracterización como dispositivos para conocer su intervalo de aplicabilidad y su mecanismo de interacción. Los sensores logrados eran sumamente sensibles, operaban en un amplio intervalo de temperaturas y seguían operativos incluso a temperatura ambiente, y además eran totalmente reversibles y con un largo tiempo de vida.

Posteriormente desarrollé lo que constituyó mi primer dispositivo biosensor microelectrónico basado en los sensores anteriores, el primer dispositivo de este tipo que se fabricaba en el país. En una reacción enzimática, el sustrato específico de la enzima empleada se degrada y, durante dicha reacción de degradación, se desprenden gases que podían ser detectados con nuestros sensores, constituyendo así una medida cuantitativa y selectiva del

sustrato enzimático empleado. Así, el objetivo fue desarrollar un biosensor de urea combinando una capa enzimática de ureasa con el sensor de NH_3, detectándose el amoniaco producido en la reacción de degradación de la urea, compuesto de interés clínico. La urea fue determinada en el intervalo de 0,4 a 10 mM, que es el rango usual de las pruebas clínicas.

El trabajo de tesis dio lugar a un elevado número de publicaciones internacionales que tuvieron gran repercusión en su ámbito. Aún a día de hoy, y después de veintidós años, algunas de ellas todavía reciben citas en la literatura especializada. Pero quizá lo más destacable de este trabajo, aparte de las publicaciones internacionales, fue que la difusión de estos resultados en la revista de divulgación científica *Química e industria* atrajo la atención inmediata de la empresa Tabacalera, una de las mayores empresas del país en aquel momento, dadas sus dificultades para analizar el contenido de NH_3 en los exhalados del tabaco. Si el contenido de NH_3 en el humo no era el adecuado podía ser una indicación de una proporción desajustada en la composición del tabaco, lo que podía llegar a causar una grave toxicidad a los usuarios. Pocas semanas después de dicha publicación, comencé a colaborar estrechamente con Tabacalera. Era el año 1991, y esa se convirtió en mi primera incursión en el mundo de la I+D empresarial. Como anécdota, merece la pena mencionar que nunca he fumado en mi vida, así que las visitas a los laboratorios de I+D de Tabacalera, con sus «máquinas» fumadoras y sus olores, eran un auténtico infierno. Las muestras las trasladábamos al laboratorio en unos globos llenos de aquella pestilencia, y en una ocasión uno de los globos explotó y fue necesario evacuar y ventilar todo el instituto para evitar males mayores.

Cabe decir también que en aquella época ninguno de los implicados en la investigación (mi directora de tesis, el director del instituto o yo misma) nos planteamos la posibilidad de patentar aquellos sensores, aunque eran únicos tanto en su diseño como en su excelente funcionamiento y con un evidente interés industrial. Una muestra de la escasa cultura de la transferencia tecnológica y la poca importancia que se le daba en el año 1992, incluso en un centro creado para la colaboración industrial.

Los tulipanes holandeses (1992-1994)

Después del trabajo realizado con los sensores y biosensores de gases, cuyo principio de funcionamiento estaba basado en cambios eléctricos, mi interés científico se inclinó hacia los sensores ópticos y la óptica integrada, por considerar que esta tecnología y este tipo de sensores eran sumamente ventajosos en numerosos aspectos frente a los eléctricos y se perfilaban en aquel momento como una de las tecnologías de mayor impacto futuro, como luego se ha demostrado con los años. Para ello realicé una estancia posdoctoral en el prestigioso MESA+ Research Institute, localizado en la Universidad de Twente, en Holanda. Se trataba de un centro pionero en el desarrollo de dispositivos micro y optoelectrónicos y contaba con una de las mejores salas de fabricación microelectrónica (sala blanca o *clean room*) del momento. Durante mi estancia posdoctoral trabajé en el grupo dirigido por el profesor Rob Kooyman, uno de los precursores y visionarios en el trabajo científico multidisciplinar y que desarrolló los primeros biosensores plasmónicos e interferométricos para aplicaciones inmunológicas, combinando de forma

magistral un sensor fotónico con una monocapa de anticuerpos receptores. En aquel tiempo, nuestros conocimientos del área bio eran más bien escasos, y poco sabíamos de técnicas de inmovilización covalente o técnicas de orientación de los anticuerpos para aumentar la eficacia de la captura. Pero aun así, el grupo desarrollaba un trabajo notable en la consecución de dispositivos biosensores que demostraron ser los de mayor sensibilidad sin necesidad de un marcaje fluorescente publicados hasta la fecha. Durante los dos años que permanecí allí, uno de los estudiantes de doctorado del grupo montó una *spin off* con parte del conocimiento allí generado y otro de mis compañeros del posdoctorado, el doctor René Heideman, fundó la empresa *spin off* Lionix BV en 2001, de la cual es actualmente el director de tecnología.

Durante esa estancia aprendí a trabajar en una sala blanca, salas con instalaciones especiales para la fabricación microelectrónica y con un ambiente muy controlado en cuanto a presencia de polvo, contenido en oxígeno y temperatura. Allí me entrenaron para ser capaz de manejar sus sofisticados equipos y fabricar chips de tamaño micrométrico siguiendo las estrictas pautas de la fabricación optoelectrónica vestida con trajes especiales para no contaminar los chips, lo que dificultaba enormemente el movimiento. De esa forma me instruí en el diseño y fabricación de sensores ópticos novedosos basados en tecnología microelectrónica de silicio, usando guías de ondas ópticas. El principal logro fue la fabricación de un dispositivo denominado interferómetro Mach-Zehnder de tipo planar con un sistema de flujo optimizado (mi grupo no había conseguido hasta mi llegada la implementación de sistemas de microfluídica), mostrando además unas medidas como inmunosensor (reacción específica antígeno-anticuerpo) con el menor límite de detección (10-11 M o 10-2 nm de espesor de biocapa) conseguido para este tipo de dispositivos en un medida directa (es decir, sin necesidad de marcadores fluorescentes, como en los métodos tradicionales) en aquella época.

De nuevo, la realización de este trabajo supuso un importante reto profesional, ya que eran necesarios conocimientos de óptica, tecnología optoelectrónica, microfluídica y biología, y mi formación era muy escasa en todas esas materias.

Mi primer grupo de investigación (1997)

Después de una fructífera formación durante mi estancia posdoctoral, a mi vuelta al Centro Nacional de Microelectrónica del CSIC en Madrid puse en marcha una nueva línea de investigación a partir de 1997, una vez conseguida una plaza de científico titular del CSIC. Configurar un nuevo grupo no fue una tarea sencilla, al no contar con ninguna ayuda económica inicial que permitiera la contratación de personal y la adquisición del material fungible o del mínimo equipamiento necesario. Fueron años complicados, donde el apoyo incondicional de colaboradores como Ana Calle, Carlos Domínguez o José Ramón Sendra, del CNM, fueron esenciales.

En mi nuevo grupo nuestra investigación se centró en el desarrollo de biosensores ópticos de campos evanescentes basados en dispositivos optoelectrónicos y fabricados con tecnología microelectrónica, aplicando todo lo aprendido en mi estancia posdoctoral y ampliándolo a

nuevas tecnologías. Estos sensores se basan en el principio de modulación del campo evanescente y pueden emplearse para detectar una reacción bioespecífica de reconocimiento molecular, como por ejemplo una reacción antígeno-anticuerpo o una hibridación ADN-ADN. Se trata de dispositivos con características excepcionales, ya que permiten este tipo de detección de manera directa (sin marcadores) y rápida (de segundos a minutos); ningún otro método en biotecnología proporciona estas dos características. Dentro de esta línea de investigación en biosensores optoelectrónicos se desarrollaron en paralelo dos tipos de sensores: un sensor de resonancia de plasmón superficial (SPR) y un sensor interferométrico integrado Mach-Zehnder (MZI). La investigación que se realizó tuvo la particularidad de ser tecnológica y multidisciplinar, ya que se involucraban áreas diversas como la óptica, la química, la biotecnología y la microelectrónica. Y siempre orientada a aplicaciones finales.

En el caso de los sensores interferométricos integrados, durante varios años desarrollamos un intenso trabajo científico-tecnológico para conseguir dispositivos biosensores tecnológicamente avanzados donde se puso de manifiesto las estrictas especificaciones requeridas: las guías de ondas ópticas deben ser monomodo (solo puede circular un modo de la luz) y con una alta sensibilidad superficial hacia reacciones de interacción biomolecular, lo que significaba en la práctica construir un dispositivo de dimensiones muy reducidas (guías de ondas de tan solo 3 μm de ancho, 100 nm de espesor y tan sólo 4 nm de altura), por lo que su diseño, fabricación, manejo y evaluación eran sumamente laboriosos. Estos dispositivos integraban además los canales para la separación y la recombinación de la luz en canales fotónicos submicrónicos. Hay que destacar que fue el primer nanodispositivo interferométrico integrado basado en guías de ondas convencionales con el que se logró una medida inmunológica en directo y en tiempo real, lo que nos permitió demostrar la consecución de dispositivos a escala micro/nanométrica con la mayor sensibilidad superficial (10-8 en índice de refracción efectivo) conocida en la literatura específica.

Al mismo tiempo, y en el caso del SPR, sensor basado en la alta reflectividad de una capa nanométrica de oro que es sensible a diminutos cambios en el índice de refracción del medio en contacto con la superficie del sensor, se consiguieron fabricar prototipos completos de biosensores de SPR, incluyendo el sensor, la óptica de excitación y acoplamiento, la microfluídica y el sistema de control de flujos, además de la electrónica y el *software* y *hardware* necesarios para su manejo, alcanzándose un límite de detección del orden de 10-6 en índice de refracción. Además, se desarrollaron métodos de modificación química superficial y anclaje por enlace covalente de los receptores biológicos específicos para cada aplicación.

Se demostró por primera vez la posibilidad de detectar de forma directa contaminantes tóxicos como los pesticidas orgánicos presentes en concentraciones de trazas en aguas naturales mediante el empleo de un inmunosensor portátil basado en esta tecnología. El análisis se llevó a cabo mediante un inmunoensayo en formato de inhibición donde el analito se inmoviliza covalentemente en la superficie del sensor y el contaminante es reconocido por un anticuerpo específico. Para ello se optimizó el protocolo de funcionalización del receptor biológico, lo que permitió reutilizar el dispositivo sensor durante más de doscientos ciclos de regeneración. El límite de detección conseguido fue de tan solo

1,38 μg.L-1 (ppt, partes por trillón), cumpliendo las exigencias de la legislación europea en materia de detección de residuos de pesticidas. El análisis se llevó a cabo en solo veinte minutos. Todos estos valores indicaban una gran ventaja competitiva frente a las técnicas analíticas estándar normalmente empleadas en el estudio de la contaminación, que requieren un acondicionamiento previo de la muestra y el empleo de personal técnico especializado.

A raíz de estas investigaciones, firmé mi primer contrato con una empresa situada en el País Vasco dedicada al control medioambiental, pero vinculada al Ministerio de Defensa. El trabajo discurrió con normalidad hasta que la empresa pretendió apropiarse de nuestro conocimiento previo completo a cambio del contrato en vigor, que era de muy baja cuantía económica. Aquello era una muestra sintomática de la casi inexistente relación academia-empresa, del desconocimiento mutuo en aquellos años y de la escasa preparación para la I+D de los empresarios de entonces.

En esa misma época comenzamos algunas colaboraciones con la empresa Boeing (Estados Unidos) y juntos organizamos diversos *workshops* con el patrocinio de la OTAN para explorar la aplicabilidad de la tecnología biosensora en el control de la guerra química y bacteriológica, temática que suscitaba un gran interés en aquel momento.

En nuestro grupo, los dispositivos SPR se han aplicado a lo largo de todos estos años con gran éxito en la detección de las principales familias de pesticidas, contaminantes alimentarios, mutaciones puntuales en el ADN (indicativas de defectos genéticos), evaluación de biomateriales para implantes en humanos, evaluación precoz del cáncer mediante la detección de biomarcadores proteicos y microARN, evaluación de hormonas de dopaje, evaluación de partículas virales para la detección y tratamiento del VIH-1 y, recientemente, para el análisis de alergias en el suero de pacientes y en la detección precoz del cáncer de colón.

La primera aventura empresarial: Sensia (2004)

Los excelentes resultados de evaluación medioambiental obtenidos en el laboratorio utilizando directamente muestras reales sobre la presencia de pesticidas organoclorados, organofosforados y carbamatos, todos ampliamente empleados en agricultura, nos condujo a dar el salto a la creación de una *spin off* académica. Y en el año 2004 nace Sensia, una empresa innovadora de base tecnológica dedicada a la comercialización de biosensores de resonancia de plasmón superficial, una técnica analítica basada en principios ópticos que permite el análisis de numerosas sustancias químicas y biológicas con alta sensibilidad y selectividad, en tiempo real, sin necesidad de marcadores fluorescentes o radioactivos y con una reducida cantidad de muestra.

A partir de un primer prototipo de laboratorio y de los excelentes resultados contrastados en el ámbito del control medioambiental, se decide iniciar esta aventura empresarial de la mano de la compañía biotecnológica Genetrix, combinando así los conocimientos científicos y de innovación tecnológica con los de gestión empresarial. Esencial en este proceso fue

la relación ya existente de una fructífera colaboración científica con el grupo del profesor Carlos Martínez-Alonso y con la doctora Cristina Garmendia, presidenta del grupo Genetrix.

El principal objetivo de la empresa en el momento de su creación era ofrecer tecnología analítica robusta con productos y servicios de alto valor añadido, constituyendo la primera empresa en España que desarrollaba y comercializaba esta tecnología basada en desarrollos propios. Campos de aplicación potenciales de esta tecnología son el diagnóstico clínico centralizado y descentralizado, el control medioambiental y el control alimentario y veterinario, entre otros muchos, proporcionando una potente herramienta no solo para simplificar los análisis, sino también para realizar estudios fundamentales de la cinética de las interacciones biomoleculares.

Ese mismo año, Sensia recibe el primer premio en el II Concurso de Ideas para *Spin Off* de Investigadores Madrid+d, en la categoría de planes de negocio, de la Comunidad de Madrid. En 2006, Sensia completa el desarrollo del primer prototipo y pone en el mercado, tan solo dos años después de su creación, la versión β del biosensor SPR. En 2007, y tras determinar la necesidad de incluir un socio industrial para la completa industrialización de un equipo totalmente automatizado, así como la introducción del producto en el mercado como un equipo robusto y fiable, varias cooperativas del Grupo Mondragón deciden entrar a formar parte de la sociedad. En julio de 2009, dichas empresas del Grupo Mondragón pasaron a ser conjuntamente los accionistas mayoritarios de Sensia. En 2012, y con la puesta en el mercado de un nuevo equipo de SPR totalmente automatizado, de fácil manejo por parte del usuario y totalmente autónomo, Mondragón adquiere el resto de la empresa y Sensia pasa a ser de su propiedad completamente.

Mi participación en el programa de la Fundación Botín (2007-2012)

Uno de los grandes retos a los que se enfrenta la medicina en este siglo es encontrar nuevos métodos diagnósticos más rápidos, eficaces y específicos que, además de proporcionar un diagnóstico precoz, reduzcan al máximo los costes implicados. Una identificación temprana permitiría una rápida capacidad de respuesta y la inmediata aplicación del tratamiento específico, ofreciendo así mayores posibilidades de recuperación al paciente. Los dispositivos (nano) biosensores pueden ser una respuesta adecuada a tal necesidad. Por ello, a partir del año 2007 mi línea fundamental de trabajo pasa a situarse en el campo de la nanomedicina y mi actividad científica se focaliza en el desarrollo de micro/nanosistemas biosensores y su integración en plataformas portátiles de análisis clínico.

La evolución que han experimentado las tecnologías en los últimos años me permite en ese momento la incorporación de desarrollos que provienen del campo de la nanotecnología, lo que ha significado una mejora notable en las prestaciones de los dispositivos fabricados. El principal objetivo se centra entonces en conseguir dispositivos nanobiosensores y su integración en plataformas tipo *lab-on-a-chip* que puedan ser incorporados en situaciones reales como diagnóstico clínico precoz y control genético, medioambiental o bioclínico. Con estos sensores sería posible evaluar directamente concentraciones de proteínas a nivel

picomolar o variaciones de una única base en el ADN en tan solo unos minutos, necesitando volúmenes de muestra del orden de unos pocos microlitros y, en algunas ocasiones, las muestras a analizar (orina, suero) ni siquiera requieren un pretratamiento previo. Una plataforma *lab-on-a-chip* que integre diversos bionanosensores podría ofrecer un diagnóstico completo a partir de una gota de sangre mediante la identificación —de otra manera imperceptible— de cambios moleculares.

En el año 2007 me incorporo al Programa de Transferencia de Tecnología de la Fundación Botín. En consonancia con mis propios objetivos, el programa de la Fundación Botín me proporciona las herramientas y la visión necesarias para demostrar que es posible el desarrollo tecnológico de dispositivos basados en una previa ciencia de calidad y su posterior transferencia tecnológica. También me permitió visualizar de forma más clara y precisa la necesidad de un trabajo multidisciplinar e integrado dentro del mismo grupo de investigación para abordar con éxito un desarrollo competitivo a escala internacional de biodispositivos de diagnóstico.

Los años de participación en el Programa Botín constituyeron una de las épocas más productivas de mi grupo de investigación, con trabajos pioneros a nivel internacional en el desarrollo de nuevos tipos de dispositivos biosensores, como el biosensor basado en guías bimodales ópticas, el biosensor magneto-óptico de resonancia de plasmón superficial o los sensores modulados en longitud de onda. Además, impulsó la búsqueda de una aplicación clínica real de nuestras tecnologías y surgieron importantes colaboraciones con otros participantes del Programa Botín y con los principales hospitales del país.

Durante este tiempo se investigó en nuevos sistemas de aumento de la sensibilidad del dispositivo SPR, que se concretó en dos desarrollos pioneros en el mundo: el biosensor magneto-óptico de resonancia de plasmón superficial (MOSPR) y la introducción de una nueva técnica de aumento de sensibilidad basada en modulación de la longitud de onda (ML-SPR). También se puso en marcha una nueva línea para evaluar otras alternativas fundamentadas en la utilización de nanopartículas y nanoestructuras plasmónicas. Estas nanoestructuras pueden aportar un mayor nivel de sensibilidad en las medidas biosensoras en comparación con el SPR convencional. Con dichos sistemas se llevaron a cabo estudios teóricos y experimentales dirigidos a optimizar y aumentar la sensibilidad de las nanoestructuras en función de su forma y tamaño. Se realizó la demostración de la capacidad biosensora de novedosas plataformas nanoestructuradas nanoplasmónicas basadas en nanodiscos de oro (incluso al nivel de una única nanoestructura) mediante la evaluación de hibridación de sondas de ADN, lo que abre la posibilidad de detección multiplexada de cientos de interacciones biomoleculares en tiempo real y sin necesidad de marcaje con plataformas de tamaños inferiores a pocos centímetros.

En esa época también desarrollamos un trabajo pionero proponiendo un nuevo dispositivo nanointerferométrico basado en guías bimodales nanométricas y redes de difracción montables para el acoplamiento de la luz en los sensores. Estos biosensores nanofotónicos fundamentados en óptica integrada de silicio combinan al mismo tiempo una elevada sensibilidad (varios órdenes de magnitud mayor que para nanoplasmónica), estabilidad

mecánica, miniaturización y capacidad de producción a gran escala. Los principales trabajos realizados incluyeron el diseño teórico y modelización de nuevas estructuras ópticas basadas en guías de onda, la fabricación de dispositivos en instalaciones de sala blanca, el diseño y fabricación de micro/macro celdas de flujo y la posterior implementación de sistemas de flujo, el desarrollo de sistemas de modulación y lectura óptica, el desarrollo de la electrónica, adquisición de datos y *software* de control, caracterización analítica de los dispositivos y, finalmente, la aplicación en diagnóstico clínico. Con esta nueva tecnología nanofotónica se ha trabajado intensamente en los últimos años en la integración en microsistemas *lab-on-a-chip*, que incorporan en la misma plataforma los micro/nanosensores, láseres, microfluídica, fotodetectores y el *software/hardware* necesario para su completa integración y para obtener en un futuro analizadores portátiles para el diagnóstico descentralizado. Se trata de una línea de investigación compleja y multidisciplinar.

La estrecha colaboración con el programa de la Fundación Botín ha permitido una activa evaluación del grado de innovación e inventiva de las nuevas ideas que se originaban en el laboratorio. Durante este tiempo surgieron diversas patentes, y una de ellas, concedida en todas las fases nacionales durante los últimos años, ha sido licenciada en abril de 2014 a la empresa PROMAX Electrónica, constituyendo un gran paso hacia la comercialización de esta tecnología. Sin la ayuda recibida por el programa, no solo en términos de financiación, sino de un correcto enfoque de objetivos y prioridades en mi grupo de investigación, este desarrollo tan competitivo no habría sido posible.

También en 2007 mi grupo es seleccionado como uno de los fundadores del Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), uno de los nueve consorcios CIBER del país, cuya creación fue liderada por el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) para fomentar la investigación de excelencia y la masa crítica de investigadores en el campo de la Biomedicina y las Ciencias de la Salud. El CIBER BBN se constituyó oficialmente el 4 de diciembre de 2006. Los programas de investigación del CIBER-BBN incluyeron tres grandes temáticas: bioingeniería e imagen biomédica, biomateriales e ingeniería tisular y nanomedicina. Y la investigación estaba orientada tanto al desarrollo de sistemas de prevención, diagnóstico y seguimiento como a tecnologías relacionadas con terapias específicas, como medicina regenerativa y nanoterapias. Mi actividad dentro del CIBER-BBN se enmarca en el área de la nanomedicina y, en concreto, en la línea de plataformas bioanalíticas de diagnóstico molecular para identificación de biomarcadores y estudios de cribado masivos, tanto para el diagnóstico precoz como el seguimiento y pronóstico de enfermedades.

Objetivos primordiales del CIBER-BBN es ofrecer una investigación de calidad cuyos resultados contribuyan a la mejora de la asistencia sanitaria ofrecida al paciente y a la creación de riqueza en el país mediante la transferencia de resultados de investigación a la industria, así como fomentar la proyección en su ámbito de actuación y la participación en programas de desarrollo competitivos a nivel internacional. Con estos objetivos, a partir de nuestra entrada en este nuevo centro, nuestra investigación se enfoca cada vez más a la aplicación clínica real, en consonancia con los objetivos ya marcados por el programa de la Fundación Botín.

En el año 2008 inicio una nueva andadura en el recientemente creado Institut Català de Nanociència i Nanotecnologia (ICN2), centro conjunto del CSIC y de la Generalitat de Catalunya, integrado en la red CERCA de centros de investigación de Cataluña y galardonado en 2014 con el sello de excelencia Severo Ochoa. La incorporación de mi grupo a este nuevo centro supone un cambio notable en el modelo de hacer nuestra investigación, accediendo a un sistema más ágil, donde prima la excelencia y la investigación de calidad en un entorno más competitivo. La coincidencia con la participación en el programa de la Fundación Botín ha supuesto un gran paso cuantitativo y cualitativo en el quehacer diario de mi grupo de investigación.

Aplicaciones en diagnóstico clínico

Una de las principales vertientes de mi trabajo ha sido la demostración real de la aplicabilidad de los sistemas de diagnóstico que hemos venido desarrollando a lo largo de los años en el ámbito clínico. Me gustaría destacar por último algunos de estos resultados para poner en valor las tecnologías desarrolladas:

• Se ha demostrado la posibilidad de analizar la presencia de metabolitos de pesticidas en muestras de orina de pacientes, lo que abre la posibilidad del análisis de sustancias potencialmente tóxicas que se acumulan en el cuerpo humano.

• Se ha demostrado la detección directa (sin marcadores) de mutaciones puntuales en secuencias de ADN correspondientes al gen BRCA1, indicativos de la predisposición en mujeres a padecer cáncer de mama hereditario. Se ha desarrollado una técnica que permite hasta la determinación simultánea de cuatro mutaciones relevantes. El análisis se lleva a cabo en tiempo real, en directo y con mínima cantidad de muestra de sangre, lo que supone un notable avance frente a las técnicas genómicas convencionales.

• Se ha aplicado para la detección, a niveles fisiológicos, de hormonas de crecimiento, de fertilidad y de hormonas relacionadas con el tiroides en muestras de orina y de suero humano. Se ha desarrollado una metodología que, a diferencia de los análisis clínicos convencionales, permite la evaluación sin necesidad de pretratamiento previo de la muestra, en tiempo real, sin marcajes fluorescentes o ampliación enzimática y con ínfimas cantidades de muestra. Los resultados han demostrado claramente la utilidad de la tecnología para el análisis clínico en muestras humanas, lo que abre la vía para un análisis clínico descentralizado.

• Se ha demostrado la utilidad de la tecnología biosensora para la evaluación en tiempo real de interacciones entre receptores celulares GPCR (receptores con siete dominios transmembrana acoplados a proteínas G) de quimioquinas y sus ligandos específicos. Estos receptores están involucrados en una gran diversidad de procesos fisiopatológicos, como la transmisión neuronal, la función cardiaca o el movimiento celular, siendo fundamentales en múltiples procesos fisiológicos y patológicos (asma, artritis reumatoide, etcétera). Son considerados como dianas terapéuticas óptimas y objeto de gran interés por parte de las compañías farmacéuticas. Sin embargo, la mayoría

de los estudios tropiezan con la alta complejidad de su aislamiento de la membrana celular sin perder su funcionalidad. En nuestro trabajo se han empleado partículas virales como agentes presentadores de los receptores, constituyendo una ruta pionera en la obtención de receptores de membranas celulares preservando su funcionalidad. El uso de microsistemas biosensores ha permitido analizar las interacciones entre los receptores y sus ligandos específicos en tiempo real, demostrando la medida fiable de la cinética de la interacción, además de disponer de un método de cribado rápido y de fácil aplicación a múltiples muestras, como los que son necesarios para la búsqueda de antagonistas.

• Detección biosensora con elevada sensibilidad de ARN mensajero (ARNm) proveniente de extractos celulares de bacterias patógenas. El ARN está implicado en multitud de procesos biológicos y es de interés en campos como la epigenética, la detección de enfermedades por la alteración de sus niveles de expresión en la célula o para identificación de agentes infecciosos. En nuestro trabajo se han empleado novedosos receptores nucleicos con estructura de horquilla que, mediante la formación de estructuras tipo tríplex, consiguen una alta capacidad para capturar secuencias de ARN altamente estructuradas. Esta estrategia representa una innovación en el campo de la detección de ARN mediante dispositivos biosensores sin necesidad de marcaje, en tiempo real y con excelentes niveles de detección (pM).

• Determinación de *splicing* alternativo de ARN con tecnología biosensora, lo que aporta una gran simplicidad frente a las técnicas convencionales. El *splicing* es un proceso mediante el cual, en el ARN procedente de la transcripción de un gen, los intrones son eliminados y los exones unidos de nuevo. En proceso de *splicing* alternativo se pueden generar diferentes versiones proteicas con funciones a veces incluso antagónicas a partir de un mismo gen. Dicho proceso puede implicar graves trastornos en el metabolismo celular e incluso cáncer, pero se desconocen los mecanismos últimos que lo generan. La mayor parte de los métodos actualmente empleados para este tipo de análisis son sumamente complejos y de elevado coste. En nuestro trabajo se ha demostrado la utilidad de la tecnología biosensora para la evaluación de *splicing* alternativo en el gen FAS que participa en la regulación del proceso de apoptosis o muerte celular programada, crucial para evitar el desarrollo del cáncer. Nuestra metodología basada en biosensores ha supuesto una interesante y diferente opción frente a los métodos convencionales, ya que permiten la detección en pocos minutos, en tiempo real y sin necesidad de marcajes.

• Aplicación de la metodología biosensora para el análisis de alergia en pacientes mediante la utilización de dendrímeros como elemento biorreceptor. Las evaluaciones se han realizado directamente en muestras de suero de pacientes de pocos microlitros, previamente evaluadas en el hospital mediante técnicas convencionales. Nuestros resultados son muy similares a los datos obtenidos en el hospital, lo que indica que nuestro dispositivo tiene una alta potencialidad como sistema de diagnóstico de alergias con una mínima molestia para los pacientes.

En su conjunto, mis investigaciones han constituido un trabajo pionero en el área de dispositivos biosensores, campo que hoy en día es una línea prioritaria de actuación en numerosos institutos y centros de investigación y empresas biotecnológicas, farmacéuticas y de ingeniería electrónica en nuestro país y en el mundo. El trabajo realizado ha aunado ciencia, tecnología e investigación transnacional, con una demostración de transferencia industrial y llegada al mercado y con una conjunción de investigación básica, dispositivos innovadores y transferencia tecnológica con una clara visión de futuro.

La detección precoz de enfermedades, su inmediato tratamiento personalizado y el posterior seguimiento de su evolución serán posibles en los próximos años gracias a la aplicación de estas nuevas herramientas nanotecnológicas. Espero que mi trabajo en el campo del nanodiagnóstico permita contribuir en un futuro cercano a la obtención de diagnósticos integrales de cada paciente que nos permitan conocer su perfil genético, inmunológico, resistencia a antibióticos, bacterias y virus presentes en su organismo. Con todo ello se podrán personalizar los programas de prevención y modificar hábitos para que vivamos con mayor calidad de vida.

Bibliografía

E. Mauriz, S. Carbajo-Pescador, R. Ordoñez, M. C. García-Fernández, J. L. Mauriz, L. M. Lechuga y J. González-Gallego, «On-line surface plasmon resonance biosensing of vascular endothelial growth factor signaling in intact-human hepatoma cell lines», en *Analyst*, vol. 139, n.º 6, 2014, pp. 1426-1435.

M. Soler, M. C. Estévez, M. Álvarez, M. A. Otte, B. Sepúlveda y L. M. Lechuga, «Direct detection of protein biomarkers in human fluids using site-specific antibody immobilisation strategies», en *Sensors*, vol. 14, n.º 2, 2014, pp. 2239-2258.

M. Soler, P. Mesa-Antúnez, M. C. Estévez, A. J. Ruiz-Sánchez, M. A. Otte, B. Sepúlveda, D. Collado, C. Mayorga, M. J. Torres, E. Pérez-Inestrosa y L. M. Lechuga, «Highly sensitive dendrimer-based nanoplasmonic biosensor for drug allergy diagnosis», en *Biosens Bioelectron*, 2014, en prensa.

M. C. Estévez, M. A. Otte, B. Sepúlveda y L. M. Lechuga, «Trends and challenges of Nanoplasmonics Biosensors: a review», en *Anal Chim Acta*, 2014, pp. 806, 855-73.

E. de Juan-Franco, A. Caruz, J. R. Pedrajas y L. M. Lechuga, «Site-directed antibody immobilization using a protein A-gold binding domain fusion protein for enhanced SPR immunosensing», en *Analyst*, vol. 138, n.º 7, 2013, pp. 2023-2031.

E. de Juan-Franco, J. M. Rodríguez-Frade, M. Mellado y L. M. Lechuga, «Implementation of an SPR immunosensor for the simultaneous detection of the 22K and 20K hGH isoforms in human serum samples», en *Talanta*, vol. 114, 2013, pp. 268-275.

L. G. Carrascosa, S. Gomez-Montes, A. Aviñó, A. Nadal, M. Pla, R. Eritja y L. M. Lechuga, «Sensitive and label-free biosensing of RNA with predicted secondary structures by a triplex affinity capture method», en *Nucleid Acid Res*, vol. 40, n.º 8, 2012, e56. DOI: 10.1093/nar/gkr1304

D. Duval, A. B. González-Guerrero, S. Dante, J. Osmond, R. Monge, L. J. Fernández, K. E. Zinoviev, C. Domínguez y L. M. Lechuga, «Nanophotonic lab-on-a-chip platforms including novel bimodal interferometers, microfluidics and grating couplers», en *Lab chip*, vol. 12, n.º 11, 2012, pp. 1987-1994.

M. C. Estévez, M. Álvarez y L. M. Lechuga, «Integrated Optical devices for lab-on-a-chip biosensing applications», en *Laser Photon Review*, vol. 6, n.º 4, 2012, pp. 463-487.

B. Vega, L. Martínez Muñoz, P. Lucas, J. M. Rodríguez-Frade, A. Calle, L. M. Lechuga, J. F. Rodríguez, R. Gutiérrez-Gallego y M. Mellado, «SPR-based analysis of CXCL12 binding parameters using immobilized lentiviral particles», en *J Leukoc Biol*, vol. 90, n.º 2, 2011, pp. 399-408.

K. E. Zinoviev, A. B. González-Guerrero, C. Domínguez y L. M. Lechuga, «Integrated Bimodal Waveguide Interferometric Biosensor for Label-free Analysis», en *J Lightwave Technol*, vol. 29, n.º 13, 2011, pp. 1926-1930.

M. A. Otte, B. Sepúlveda, W. Ni, J. Pérez-Juste, L. M. Liz-Marzán y L. M. Lechuga, «Identification of the optimal spectral region for plasmonic and nanoplasmonic sensing», en *ACS Nano*, vol. 4, n.º 1, 2010, pp. 349-357.

L. G. Carrascosa, A. Calle y Lechuga, «Label-free detection of DNA mutations by SPR: Application to the early detection of inherited breast cancer», en *Anal Bioanal Chem*, vol. 393, 2009, pp. 1173-1182.

B. Sepúlveda, P. C. Angelomé, L. M. Lechuga y L. M. Liz-Marzán, «LSPR-based nanobiosensors», *en Nano Today*, vol. 4, 2009, pp. 244-251.

R. de la Rica, E. Mendoza, L. M. Lechuga y H. Matsui, «Label-free pathogen detection with sensor chips assembled from peptide nanotubes», en *Angew Chem Int Ed*, vol. 47, n.º 50, 2008, pp. 9752-9755.

K. Zinoviev, L. G. Carrascosa, J. Sánchez del Río, B. Sepúlveda, C. Domínguez y L. M. Lechuga, «Silicon Photonics Biosensors for "lab-on-a-chip" applications», en *Adv Opt Technol*, 2008, ID 383927.

E. Mauriz, A. Calle, J. J Manclús, A. Montoya, A. Hildebrandt, D. Barceló y L. M. Lechuga, «Optical Immunosensor for fast and sensitive detection of DDT and related compounds in river water samples», en *Biosens Bioelectron*, vol. 22, 2007, pp. 1410-1418.

E. Mauriz, A. Calle, J. J. Manclús, A. Montoya y L. M. Lechuga, «On-line determination of 3,5,6-trichloro-2-Pyridinol in human urine samples by Surface Plasmon Resonance immunosensing», en *Anal Bioanal Chem*, vol. 387, 2007, pp. 2757-2765.

E. Mauriz, A. Calle, A. Abad, A. Montoya, A. Hildebrandt, D. Barceló y L. M. Lechuga, «Determination of carbaryl in natural water samples by a Surface Plasmon Resonance flow-through immunosensor», en *Biosens Bioelectron*, vol. 2006, pp. 2129-2136.

K. Zinoviev, C. Domínguez, J. A. Plaza, V. Cardoso y L. M. Lechuga, «A novel optical waveguide microcantilever sensor for the detection of nanomechanical forces», en *J Lightwave Technol*, vol. 25, n.º 5, 2006, pp. 2132-2138.

M. Álvarez, A. Calle, J. Tamayo, A. Abad, A. Montoya y L. M. Lechuga, «Development of Nanomechanical biosensors for the detection of the pesticide DDT», en *Biosens Bioelectron*, vol. 18, n.º 5-6, 2003, pp. 649-653.

F. Prieto, B. Sepúlveda, A. Calle, A. Llobera, C. Domínguez, A. Abad, A. Montoya y L. M. Lechuga, «An integrated Optical interferometric Nanodevice based on silicon technology for biosensor applications», en *Nanotechnology*, vol. 14, n.º 8, 2003, pp. 907-912.

F. Prieto, L. M. Lechuga, A. Calle, A. Llobera y C Domínguez, «Optimised Silicon Antiresonant Reflecting Optical Waveguides for sensing applications», en *J Lightwave Technol* , vol. 19, n.º 1, 2001, pp. 75-83.

F. Prieto, A. Llobera, D. Jiménez, A. Calle, C. Domínguez y L. M. Lechuga, «Design and analysis of silicon antiresonant reflecting optical waveguides for highly sensitive sensors», en *J Lightwave Technol*, vol. 18, n.º7, 2000, pp. 966-972.

MANUEL SERRANO

EL DESCUBRIMIENTO DE p16 Y SU IMPORTANCIA EN LA MEDICINA

12

Introducción

Este ensayo trata sobre el descubrimiento del gen CDKN2A/B, su fascinante historia científica y sus implicaciones en la medicina. Este relato está muy ligado a mi trayectoria científica, así que iré insertando mis contribuciones en la narración. Me excuso de antemano, ya que esto tiene como efecto inevitable la exageración de mi protagonismo en detrimento de muchos otros que también han aportado sus logros. La ciencia es una empresa colectiva, patrimonio de todos, y lo importante es que nos permita entender mejor nuestro mundo y mejorarlo, en este caso a través de la medicina.

El CDKN2A/B tiene el privilegio de ser el único gen implicado simultáneamente en un gran número de enfermedades humanas, incluyendo múltiples tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares (aterosclerosis, infarto de miocardio, ictus), diabetes tipo II y alzhéimer, entre otras. La implicación de un solo gen en tantas enfermedades es desconcertante y sigue siendo motivo de debate y de investigación. Presentaré un modelo unificador que podría explicar por qué este gen es tan importante en tantas enfermedades.

En la parte final enumero los principales logros científicos de mi grupo sobre el estudio de CDKN2A/B y sobre otros temas relacionados fundamentalmente con la supresión tumoral realizados durante el periodo de patronazgo de la Fundación Botín, a la cual expreso mi más sincero agradecimiento.

Precedentes

En la década de los setenta, tres investigadores, trabajando independientemente en organismos modelo aparentemente muy alejados de la medicina (levaduras y erizos de mar), Paul Nurse, Lee Hartwell y Tim Hunt, descubrieron que el proceso de multiplicación celular (técnicamente llamado «ciclo celular») estaba impulsado por unas proteínas que terminarían llamándose CDK. El nombre de estas quinasas refleja el hecho de que, para su actividad, necesitan obligatoriamente estar asociadas a otra proteína llamada ciclina, de ahí el nombre de *cyclin-dependent kinases* o «quinasas dependientes de ciclinas». Por este descubrimiento, los tres recibirían el Premio Nobel en el año 2001. Pero volviendo a las CDK de levaduras y erizos, tuvo que pasar otra década para que Paul Nurse y otro investigador, David Beach, con quien yo trabajaría posteriormente, descubrieran independientemente en 1987 la existencia de CDK humanas y que también estas impulsaban el ciclo celular. Este descubrimiento atrajo la atención de muchos laboratorios, que se enfrascaron en la tarea de desentrañar la maquinaria molecular del ciclo celular en humanos y daría lugar a vertiginosos avances en los años siguientes.

Descubrimiento de p16

En octubre de 1992 me incorporé como investigador posdoctoral al Cold Spring Harbor Laboratory, que dirigía David Beach, en Long Island (cerca de Nueva York), un centro de investigación emblemático por los famosos investigadores que allí han trabajado, incluido el que fuera su director y presidente durante casi cincuenta años, James Watson, codescubridor, junto con Francis Crick, de la estructura del ADN. Mi elección del laboratorio de David Beach estaba en gran parte motivada por mi deseo de participar y vivir de cerca algún descubrimiento científico importante, y el de David Beach estaba en la primera línea de los avances sobre la comprensión del ciclo celular de las células humanas.

Apenas tres años antes, Stan Fields había desarrollado una técnica que permitía hacer cribados de todo el genoma para encontrar proteínas que se asocian a una proteína de interés (esta técnica se denomina *two-hybrid screening* o «cribado de doble híbrido»). Era un método relativamente fácil y accesible, y muchos laboratorios, incluyendo el laboratorio de David Beach, lo empezaron a utilizar. En nuestro caso, el objetivo era encontrar qué otras proteínas se asocian a las CDK humanas. Para cuando yo llegué al laboratorio de David Beach, ya se sabía que había múltiples CDK y, en mi caso, la fortuna jugó a mi favor una vez más cuando se me asignó trabajar con la CDK llamada CDK4, número que no tenía entonces más significado que el orden en el que se habían ido descubriendo las distintas CDK. Tan solo tres meses después de mi llegada al Cold Spring Harbor Laboratory, ya estaba el cribado de doble híbrido terminado y todas las proteínas que encontré asociadas a CDK4 resultaron ser la misma, una proteína de la que no sabíamos nada excepto que tenía un peso molecular de 16 kDa y que, por lo tanto, llamamos p16.

A partir de aquí se fueron dando los pasos lógicos para ir entendiendo la función de esta nueva proteína. Se confirmó que realmente CDK4 y p16 se encontraban asociadas en muchas células humanas, y se observó que, como resultado de esta asociación, se desactivaba CDK4 (o más exactamente del complejo activo CDK4/ciclina D). Debido a su actividad inhibidora sobre CDK4, decidimos darle el sobrenombre de INK4 (*inhibitor of CDK4*). El descubrimiento de p16 se publicó en la revista *Nature* en diciembre de 1993, aproximadamente un año después de mi llegada a Nueva York.[1] Se trataba del primer inhibidor conocido de una CDK, humana, de levadura o de cualquier otro organismo, y propusimos que p16 estaría actuando de manera opuesta a las ciclinas y que, por lo tanto, sería un freno para la proliferación celular («*The biochemical properties of p16INK4 suggest that it could act as a negative regulator of the proliferation of normal cells*»).

Uno de los principales genes protectores contra el cáncer

Poco después del descubrimiento de p16, un grupo de investigadores de la empresa farmacéutica Myriad Genetics hizo un sorprendente hallazgo. Este equipo de investigadores llevaba ya un tiempo buscando un posible gen protector del cáncer que se predecía que debía de estar en el cromosoma 9 y, más concretamente, en el brazo corto y en la banda 21, es decir, 9p21. Esta localización ya había llamado la atención desde hacía

mucho tiempo, puesto que en muchos tipos de cánceres humanos era frecuente encontrar la pérdida precisamente de esta región cromosómica. En otras palabras, en 9p21 había un gen (o genes) que obstaculizaba(n) el desarrollo del cáncer y que, por ello, se eliminaba(n) durante el proceso tumoral. Esta es la característica definitoria de los genes que protegen del cáncer y que técnicamente se denominan «genes supresores de tumores». Myriad Genetics había sido capaz de identificar una pequeña región en 9p21 en la que pensaban que se encontraba el gen clave para la protección del cáncer y estaban enfrascados en el entonces arduo y lento proceso de secuenciación e identificación de genes. El problema era cómo saber, de entre todos los genes que había en esa región, cuál era el gen clave para la protección del cáncer. Mientras esto ocurría en Myriad Genetics, se publicó nuestro trabajo con el descubrimiento de p16 y la propuesta de que podía ser un freno para la proliferación. Inmediatamente, los científicos de Myriad Genetics se dieron cuenta de que p16 era uno de los genes que habían encontrado en 9p21, y bastaron unas pocas pruebas más para confirmar que p16 era el gen clave que buscaban. No solo se eliminaba en muchos cánceres, sino que en aquellos casos en los que no se eliminaba era frecuente encontrar mutaciones (cambios aberrantes en la secuencia) que inactivaban el gen. Esto era la prueba incontrovertible de que p16 era un gen supresor de tumores. Debido a que el gen p16 estaba mutado o eliminado en muchos tipos diferentes de cáncer, lo llamaron MTS1 (*multiple tumor supressor 1*). Myriad Genetics publicó sus datos en la revista *Science* en abril de 1994, y a partir de entonces p16 (INK4 o MTS1) se convertiría en uno de los genes más importantes para entender el cáncer, y lógicamente para poder desarrollar terapias.

Desde 1994 ha habido innumerables trabajos sobre la implicación de p16 en el cáncer humano, y hoy en día está bien establecido que p16 forma parte de un trío de genes muy especiales por ser los únicos tres que protegen de prácticamente cualquier tipo de cáncer. Son los tres genes de protección generalizada al cáncer: p53, p16 y PTEN (por orden de su descubrimiento). Hay muchos otros genes supresores de tumores, pero, por norma, su acción se restringe a un solo tipo de cáncer o a unos pocos. La tríada p53, p16 y PTEN es claramente distinta del resto por estar implicada en la gran mayoría de los cánceres, independientemente del tipo. Todo esto ha sido ampliamente ratificado por el proyecto internacional de secuenciación del cáncer, el International Cancer Genome Consortium (IGCG), que, una y otra vez, según se van obteniendo más y más datos sobre las alteraciones que hay en el cáncer, va confirmando la importancia especial de estos tres genes protectores del cáncer.

Los genes que acompañan a p16

Gracias al trabajo de Myriad Genetics, que había secuenciado el gen p16 y sus regiones vecinas, y a posteriores trabajos de David Beach y de Chuck Sherr, entre otros, se descubrió que el gen p16 está acompañado de otros dos genes que también son genes supresores de tumores. Anteriormente he hablado de un trío de genes supresores (p53, p16 y PTEN, cada uno actuando independientemente y cada uno en una región distinta del genoma), pero ahora resulta que el gen p16 escondía a su vez un trío de genes adyacentes, que frecuentemente actúan al unísono, y todos ellos son supresores de tumores: p16, p15 y ARF. Claramente, la biología es siempre mucho más compleja de lo que nos gustaría.

El ARN mensajero de p16 (INK4/MTS1) está formado por tres exones, dos de los cuales están compartidos con el ARN mensajero de ARF, pero estos exones compartidos están en distintas fases de lectura (de hecho, el nombre ARF quiere decir *alternative reading frame,* en alusión a que es una fase de lectura alternativa). De este modo, las proteínas p16 y ARF no tienen nada en común, y el gen p16 pasó a llamarse oficialmente gen CDKN2A y a ser un gen «doble» formado por CDKN2A(p16) y CDKN2A(ARF). Por otro lado, hay otro gen adyacente a CDKN2A denominado CDKN2B, que codifica una proteína llamada p15. La proteína p15 es muy parecida a p16, y ambas comparten la misma actividad bioquímica de inhibir CDK4. En resumen, CDKN2A/B contiene tres genes: CDKN2A(p16), CDKN2A(ARF) y CDKN2B(p15).

Así que lo que parecía sencillo se convirtió en pocos años en un pequeño rompecabezas, ya que se planteó la pregunta de si los tres genes (p16, p15 y ARF) eran importantes para el cáncer, o si uno era más importante que los otros, o si esto dependía del tipo de cáncer. La respuesta a día de hoy es que todo lo anterior es cierto: la situación más común en el cáncer es que los tres genes estén simultáneamente inactivados (por pérdida de 9p21, o por metilación de todo CDKN2A/B). Sin embargo, en una proporción menor pero nada desdeñable de cánceres, es p16 el único de los tres genes que se encuentra alterado (por mutación o por metilación de su región de ADN promotora). Es notable que, en el cáncer familiar hereditario de melanoma y en el de páncreas, es de nuevo p16 el único gen alterado. Finalmente, en una minoría de cánceres solo están alterados p15 o ARF.

Mecanismos

Saber que un gen es importante para el cáncer es de poca ayuda si no conocemos exactamente cómo actúa, cómo está integrado en la red de interacciones moleculares de las células, a qué responde y cómo se regula. Aquí, el gen p16 desempeñó también un papel protagonista, ya que fue a partir de p16 y, más tarde, de ARF como se establecieron dos rutas moleculares de extraordinaria importancia para el cáncer. Tanto durante mi estancia en el laboratorio de David Beach como posteriormente ya en el Centro Nacional de Biotecnología de Madrid (al que me incorporé en enero de 1997), tuve el privilegio de contribuir a esclarecer estas dos rutas bioquímicas de protección al cáncer que actualmente forman parte de los libros de texto (véase, por ejemplo, el capítulo sobre el cáncer del popular libro de texto universitario *Biología molecular de la célula*, Alberts *et ál*.). Estas rutas tenían el atractivo de relacionar de una manera sencilla varios supresores de tumores y oncogenes, y es frecuente usar para esto la metáfora de la célula como un coche cuya velocidad se controla por el balance entre frenos (supresores de tumores) y oncogenes (aceleradores). En esencia, las proteínas p16 y p15 (supresores de tumores) desactivan al oncogén CDK4/ciclina D, y estos a su vez desactivan al gen RB o gen del retinoblastoma.[2,3] Por su parte, ARF desactiva el oncogén MDM2, que a su vez desactiva el gen p53. Los genes RB y p53 son dos conocidos genes protectores del cáncer, o genes supresores de tumores, y concretamente, como ya he mencionado, p53 es uno de los más importantes genes en la protección contra el cáncer. Las proteínas RB y p53 son las encargadas de apagar la máquina del ciclo celular a múltiples niveles. Los datos recientes de la secuenciación de los genomas del cáncer están confirmando de manera apabullante que estas dos rutas están alteradas en la inmensa mayoría de los

cánceres humanos. Por ejemplo, muchos cánceres, como ya se ha explicado anteriormente, han perdido el gen p16, pero aquellos que no lo han perdido tienen hiperactivo el oncogén CDK4/D, o han perdido RB. Sea como sea, la ruta está siempre gravemente afectada, y una situación similar ocurre en el caso de la ruta ARF/MDM2/p53.

Sin duda, mi contribución más importante en esta área la realicé junto a David Beach y Scott Lowe, cuando descubrimos que CDKN2A/B es un sensor de señales oncogénicas. Encontramos que, de algún modo, la presencia de oncogenes (genes que promueven la proliferación celular de manera anormalmente excesiva) aumentaba fuertemente la actividad de todo el gen CDKN2A/B, se producían las proteínas p16, p15 y ARF y, así, se apagaban los motores moleculares de ciclo celular, tanto a través de RB en el caso de p16 y p15 como a través de p53 en el caso de ARF.[4-6] De este modo se unió por primera vez la actividad de CDKN2A/B a la sobreabundancia de señales proliferativas y, como se verá más adelante, esto será un tema recurrente con posterioridad. A partir de ahora me voy a referir a este mecanismo como el «mecanismo de la hiperestimulación mitogénica».

Muerte celular asistida o senescencia celular

Como se acaba de mencionar, la activación de CDKN2A/B por hiperestimulación mitogénica produce un apagado de la maquinaria del ciclo celular a través de RB y p53, pero este apagado es especial. En muchas ocasiones, ante daños leves, las células pueden bloquear transitoriamente el ciclo celular, reparar los daños y reiniciar su proliferación. Sin embargo, pronto se observó que la activación de CDKN2A/B produce un «apagado profundo» del ciclo celular del que generalmente la célula no se puede recuperar. Este bloqueo permanente de la proliferación ya era conocido por los biólogos celulares bajo el nombre de «senescencia celular».

Desde que se empezaron a desarrollar los métodos para poder mantener y propagar células en el laboratorio (esto es, fuera del organismo o in vitro) hace más de cincuenta años, se supo que las células podían entrar en un estado de bloqueo permanente de la multiplicación celular que se denominó «senescencia celular». El estudio de la senescencia celular tenía ya una larga trayectoria y se conocía un único mecanismo para su activación (la pérdida de los extremos del ADN de los cromosomas o telómeros). En el mismo trabajo citado anteriormente en el que proponíamos el mecanismo de la hiperestimulación mitogénica, describimos también que la activación simultánea de p16 y p53 tenía como consecuencia la senescencia celular. Por lo tanto, el «apagado profundo» del ciclo celular se podía producir no solo por la pérdida de los telómeros, sino también por la hiperestimulación mitogénica que activa a CDKN2A/B.

A partir de esto, los avances sobre la senescencia celular se fueron sucediendo hasta muy recientemente. Algunos de los hitos en este campo fueron conseguidos en mi laboratorio, empezando en el año 2005 con el descubrimiento de que la senescencia celular no es un fenómeno restringido a las células in vitro sino que es algo que realmente ocurre dentro del organismo en respuesta a estímulos oncogénicos.[7] Y últimamente (en el año 2013), con el descubrimiento de que el propósito último de la senescencia celular es iniciar la renovación de los tejidos, que demostramos que ocurre incluso durante el desarrollo embrionario.[8]

Nuestros trabajos mencionados, junto con los de muchísimos otros investigadores que han trabajado en este fascinante fenómeno, han ido desvelando una visión mucho más rica y compleja de la senescencia celular. Las células de los tejidos, cuando sufren algún tipo de daño, generalmente son eliminadas por medio de dos procesos: el «suicidio celular», técnicamente llamado «apoptosis», por el que las células dañadas se autodegradan y quedan convertidas en pequeñas vesículas inertes; y por el proceso que he denominado «muerte celular asistida» o «senescencia celular». En este último caso, las células dañadas detienen su proliferación, generan señales de alarma (inflamación) y remodelación (degradación de los entramados proteicos que rodean a las células), y son eliminadas por células inflamatorias especializadas llamadas macrófagos (en un proceso llamado fagocitosis). El resultado de esta «muerte asistida» y de todas las señales que se producen localmente es la estimulación de procesos reparativos para intentar que el tejido vuelta a su estado inicial.

Hoy en día se sabe que la senescencia celular es tan importante o más que la apoptosis, y su implicación en múltiples enfermedades humanas está muy bien documentada. En principio, tanto la senescencia como la apoptosis son procesos beneficiosos que eliminan células dañadas y, en el caso de la senescencia, contribuyen a la reparación. Sin embargo, en el caso de daños crónicos, muy habituales con el envejecimiento, tanto el exceso de senescencia como el de apoptosis pueden llegar a convertirse en un problema per se y, por ejemplo, en situaciones patológicas, las células senescentes pueden no ser eliminadas por los macrófagos, acumularse y terminar siendo patológicas.

Del cáncer al resto de las principales enfermedades humanas

Gracias al desciframiento del genoma humano (terminado entre los años 2000 y 2003) fue posible identificar los millones de sitios del genoma con variaciones comunes que contribuyen a hacer a cada persona única. Esto, a su vez, permitió hacer por primera vez análisis de grandes números de personas con una enfermedad determinada para identificar los genes involucrados; es lo que se llama «estudios de asociación de todo el genoma» o, en inglés, *genome wide association studies* (GWAS). Yo no participé en estos estudios, pero observé atónito cómo cada estudio importante que se publicaba sobre una gran enfermedad (diabetes tipo II, aterosclerosis, infarto de miocardio, ictus cerebral, aneurisma de aorta, alzhéimer, glaucoma, endometriosis y, por supuesto, muchos tipos de cáncer) iba identificando entre los genes implicados a CDKN2A/B. Desde entonces, los estudios se han repetido y ampliado a distintas poblaciones humanas, y actualmente es abrumadora la evidencia que implica a CDKN2A/B en prácticamente todas las enfermedades humanas de gran prevalencia. Tanto es así que un estudio reciente que analiza todos los GWAS publicados hasta 2013 concluye que el gen CDKN2A/B era el único gen del genoma que estaba implicado en un gran número de enfermedades humanas (hecha la excepción del complejo múltiple de histocompatibilidad implicado en enfermedades autoinmunes e inflamatorias).

Los GWAS son muy eficientes para determinar qué genes están implicados en una enfermedad, pero adolecen de no poder hacer lo mismo con el sentido en el que esos genes participan en la enfermedad. Es decir, todos los estudios anteriores a los que he hecho referencia coinciden en que modestas variaciones en CDKN2A/B afectan a múltiples enfermedades

humanas, pero no discriminan si la situación patológica se asocia a un aumento o a una disminución de la actividad de CDKN2A/B. En el caso del cáncer está claro que una disminución en la actividad de CDKN2A/B es perjudicial, ya que disminuye la protección frente al cáncer. Pero, ¿qué pasa con el resto de las enfermedades mencionadas anteriormente? Podría ser que, igual que en el caso del cáncer, el resto de enfermedades se agraven cuando hay una disminución de CDKN2A/B, o bien solo algunas, o que incluso se comporten de modo contrario al cáncer y sea beneficiosa una disminución de CDKN2A/B.

Responder a la anterior pregunta es clave para poder entender la función de CNDK2A/B en las distintas enfermedades humanas, pero no hay todavía una respuesta definitiva. Sin embargo, sí que hay algunas pistas que merece la pena comentar aquí. Mi laboratorio generó los primeros ratones modificados genéticamente con un modesto aumento de la actividad de CDKN2A/B. Para sorpresa nuestra, estos ratones no solo desarrollaban menos cáncer, sino que además, independientemente del cáncer, eran más longevos que sus homólogos con actividad normal de CDKN2A/B, y además resultaron estar más protegidos frente a la diabetes y la aterosclerosis.[9-13] Todo esto sugería que un modesto aumento de CDKN2A/B, lejos de ser perjudicial, protege de múltiples enfermedades (al menos, de cáncer, diabetes y aterosclerosis). Esta idea ha ido reforzándose sustancialmente en el caso de la aterosclerosis, y ya se puede afirmar que un leve aumento de CDKN2A/B protege frente a la aterosclerosis tanto en ratones como en humanos. Aunque todavía es pronto para afirmarlo con rotundidad, parece que CDKN2A/B es un gen intrínsecamente protector de múltiples enfermedades, como el cáncer, pero se extiende también a la aterosclerosis y la diabetes, y posiblemente también al alzhéimer, al glaucoma, a la endometriosis, etcétera. Así que CDKN2A/B se perfila como un gen de todo punto excepcional que protege en general contra muchas enfermedades.

Un mecanismo común para muchas enfermedades

Curiosamente, aunque se sabe mucho sobre la función de CDKN2A/B en cáncer, no está claro qué papel desempeña en el resto de las enfermedades referidas. En este punto hay varias posibles interpretaciones, y aún no hay datos suficientes para afirmar con seguridad cuál es la correcta. Según un punto de vista, CDKN2A/B desempeña una función diferente en cada enfermedad, es decir, un mecanismo para cada enfermedad. También es posible que CDKN2A/B actúe a través de un único mecanismo en todas las enfermedades, el ya esclarecido mecanismo por el cual CDKN2A/B detiene la proliferación celular en respuesta a una hiperestimulación mitogénica. Personalmente, creo que hay argumentos cada vez más sólidos a favor de que CDKN2A/B actúa por un mecanismo común en todas las enfermedades.

En concreto, en muchas de las enfermedades anteriormente mencionadas se puede encontrar como factor común la existencia de procesos de daño crónico que llevan asociada una respuesta proliferativa. Este es el caso del alzhéimer, que suele ir asociado a gliosis o cicatriz glial como resultado de un exceso de señales mitogénicas (o neuroinflamación) producidas a su vez para reparar el daño neuronal. Todavía hoy se debate si la neuroinflamación y la gliosis son causa o consecuencia del alzhéimer. Una situación paralela se da

en muchas enfermedades cardiovasculares en las que el daño endotelial crónico genera una sobreabundancia de señales mitogénicas que contribuyen a la formación de las placas de ateroma. En estos dos ejemplos, alzhéimer y aterosclerosis, se puede anticipar que frenar la proliferación celular asociada a estas enfermedades va a retrasar o aminorar su progresión. Es decir, el gen CDKN2A/B podría estar actuando en estas enfermedades de la misma manera que en el cáncer: ante una hiperestimulación mitogénica se activa, induce senescencia y, de esta manera, facilita la reparación y limita la posibilidad de una multiplicación celular excesiva y no funcional. Es posible que una situación similar ocurra en el resto de las enfermedades en las que se ha implicado el gen CDKN2A/B.

Primeros medicamentos que emulan a CDKN2A/B

En el caso de la biomedicina, el proceso de transformar los avances científicos en terapias es extraordinariamente impredecible, complejo, lento y costoso. Varios estudios independientes han coincido en señalar que desde un descubrimiento científico biomédico hasta su aplicación clínica transcurren una media de diecisiete años. Este es también el caso de CDKN2A/B, puesto que se descubrió en 1993 y es ahora cuando por fin van a empezar a llegar las aplicaciones médicas. Varios laboratorios farmacéuticos han conseguido desarrollar fármacos experimentales que desactivan CDK4/D (y, por lo tanto, emulan a p16 y p15) y otros que desactivan MDM2 (y, por ello, emulan a ARF). Varios de estos compuestos se encuentran en la actualidad en ensayos clínicos dirigidos a examinar su actividad anticancerosa. Quizá, el más avanzado sea el inhibidor de CDK4/D llamado Palbociclib (de Pfizer), que recientemente ha concluido con gran éxito terapéutico los ensayos clínicos en fase 2 para cáncer de mama metastásico y está ya en la última fase de experimentación clínica. De superarla con éxito, el primer medicamento que imita la acción de p16 pasará a la práctica médica para el tratamiento del cáncer en menos de un año. Se están realizando ensayos clínicos similares con resultados prometedores para gliomas, sarcomas y otros tipos de cáncer.

Personalmente, considerando todo lo dicho sobre CDKN2A/B, tengo gran confianza en que estos nuevos compuestos farmacológicos demuestren también actividad beneficiosa en múltiples enfermedades humanas.

PROYECTOS ABORDADOS Y RESULTADOS DURANTE EL PATRONAZGO DE LA FUNDACIÓN BOTÍN (2007-2014)

Actividad antienvejecimiento de los supresores tumorales

Los supresores tumorales ARF y p53 poseen actividad antienvejecimiento

Invertimos gran parte de nuestros recursos en la generación de nuevos modelos de ratón en los que poder estudiar la supresión tumoral y su interrelación con el envejecimiento. Disponíamos de ratones súper-p53 (que portan tres copias del gen de p53) y ratones súper-ARF (que portan tres copias del gen ARF). Estos dos genes, ARF y p53, se sabe que trabajan conjuntamente y constituyen una las principales actividades de protección frente al cáncer con la que cuentan los mamíferos. Los ratones súper-p53 y los súper-ARF muestran

una protección significativa frente al cáncer cuando se los compara con ratones sin modificar. Hemos combinado estos dos transgenes en la misma cepa de ratón.[10] Sin embargo, el hallazgo más importante e inesperado que obtuvimos fue la observación de que estos ratones tienen no solo una menor tasa de cáncer, sino que también envejecían con mayor lentitud. Los análisis celulares y moleculares que realizamos nos llevaron a proponer un modelo en el que el dúo ARF/p53 está especializado en la detección tanto del daño endógeno, crónico, de baja intensidad y responsable del envejecimiento como del daño agudo y de alta intensidad responsable del cáncer. Encontramos evidencia de que p53, en respuesta al daño endógeno responsable del envejecimiento, transactiva los genes involucrados en la protección antioxidativa.

Actividad antienvejecimiento del locus Ink4/ARF

El locus Ink4/ARF codifica un trío de supresores tumorales, p15INK4b, ARF y p16INK4a, que juntos constituyen una de las principales actividades protectoras frente al cáncer de las células de los mamíferos, igual en importancia que los supresores tumorales p53 o PTEN. Hemos examinado la fertilidad, la susceptibilidad al cáncer, el envejecimiento y la longevidad de ratones modificados genéticamente para portar una o dos copias intactas adicionales del locus Ink4/ARF.[11] Mostramos que, primero, un aumento en la dosis de Ink4/ARF impide la producción de células germinales masculinas. Observamos también una menor incidencia de cáncer asociado al envejecimiento, proporcional a la dosis génica de Ink4/ARF. Determinamos que un aumento en la dosis génica de Ink4/ARF conlleva una disminución de los marcadores de envejecimiento y una extensión de la longevidad media. Percibimos una supervivencia incrementada en los ratones libres de cáncer, que indica que la protección frente al cáncer y el retraso en el envejecimiento son actividades separables del locus Ink4/ARF. Los ratones que portan una o dos copias adicionales de p53 tienen una longevidad normal a pesar de tener una protección frente al cáncer aumentada. Concluimos que el locus Ink4/ARF posee un efecto antienvejecimiento global, probablemente porque favorece la quiescencia y previene la proliferación innecesaria.

Regulación del locus Ink4/ARF

Remodelado de la cromatina en el locus Ink4/ARF

Tengo un interés continuado en la comprensión de la regulación del locus Ink/ARF y, por este motivo, nos centramos en un elemento de ADN no codificante que se halla conservado en todos los mamíferos y que hemos denominado dominio regulador (RD). Hemos encontrado que es posible manipular el estado de la cromatina de este locus simplemente dirigiendo ARN de interferencia cortos (ARNsi) al elemento RG14. La remodelación de la cromatina mediante ARNsi es un fenómeno pobremente caracterizado en mamíferos, y nos aprovechamos de este sistema experimental para diseccionar los mecanismos involucrados. Hemos descubierto que la remodelación de la cromatina mediada por ARNsi comparte un número de características con la perturbación del ARNm mediada por ARNsi. En particular, la remodelación de la cromatina mediada por ARNsi requiere las proteínas Argonauta que portan los ARNsi y reconocen los transcritos de ARN nacientes. Así pues, una condición para que se produzca la remodelación de la cromatina mediada por ARNsi es la existencia de una transcripción solapante a lo largo del ADN objeto de ataque. Nosotros observamos que, de hecho, el locus Ink4/ARF en su integridad, incluido el elemento RD, se transcribe con una

orientación antisentido y que la mayoría de esta transcripción deriva de un gen posterior que codifica a una proteína involucrada en el metabolismo de nucleótidos llamada MTAP.

Función del locus Ink4/ARF durante la reprogramación nuclear

El locus Ink4/ARF es una barrera para la reprogramación a células iPS

El locus Ink4/ARF codifica tres potentes supresores tumorales, p15Ink4b, p16Ink4a y p19ARF, que se expresan basalmente en las células diferenciadas y se sobreexpresan tras señales mitogénicas aberrantes.

Mostramos que este locus está silenciado por completo en las células iPS, así como en las células madre embrionarias (CME), y que retiene la capacidad de ser reactivado tras la diferenciación.[15] Observamos que las condiciones de cultivos celulares durante la reprogramación aumentan la expresión del locus Ink4/ARF, de ahí la importancia de silenciar el locus para permitir la reprogramación y la proliferación. El silenciamiento de este locus es limitante para la eficiencia de reprogramación y su inhibición transitoria puede mejorar de forma significativa la generación de células iPS.

Efecto in vivo de los factores de reprogramación

Reprogramación celular in vivo

Hasta el momento en que nosotros comenzamos nuestros estudios, la reprogramación celular se alcanzaba solamente bajo unas condiciones de cultivo in vitro muy controladas, mientras que el microentorno tisular in vivo llevaría en principio hacia la diferenciación celular y se opondría a la reprogramación. Teniendo en cuenta todas las consideraciones anteriores, decidimos aun así intentar la consecución de la reprogramación celular en el seno de un organismo. Demostramos que la inducción transitoria en ratones de los llamados cuatro factores de reprogramación (Oct4, Sox2, Klf4 y c-Myc) conllevaba una rápida desdiferenciación en múltiples tejidos.[16] Esta desdiferenciación se producía en magnitudes variables, que incluían la perdida de la expresión de queratina y la adquisición de expresión de ciertos marcadores de pluripotencia indicativa de reprogramación. A periodos de tiempo más tardíos los ratones desarrollaban teratomas múltiples. Nuestros ratones «reprogramables» también tenían células iPS circulantes en la sangre y, al nivel del transcriptoma, estas células iPS generadas in vivo son más cercanas a las CME que las células iPS generadas in vitro de manera estándar. Concluimos que la reprogramación celular en el seno de un organismo es factible y que confiere a las células reprogramadas in vivo unos rasgos de totipotencia de los que carecen las células iPS estándar o las CME.

Cáncer y pluripotencia

Una conexión entre p27 y Sox2

Muy a menudo las células tumorales experimentan una pérdida de diferenciación y una adquisición de características de troncalidad. En este contexto es importante comprender cómo los genes de pluripotencia se mantienen reprimidos en células diferenciadas normales y cómo se pierde esta represión en las células cancerosas. Hemos descubierto

una conexión mecanística sin precedentes y de relevancia para el cáncer entre el supresor tumoral p27 y el factor de transcripción Sox2: p27 se une y reprime la expresión de Sox2.[17] Obtuvimos la pista para conectar p27 y Sox2 al estudiar la reprogramación de células carentes del gen p27 y observar que se podía reprogramar a células iPS sin la necesidad de la expresión ectópica de Sox2. Esto nos condujo a estudiar si existía un vínculo entre dos proteínas previamente no relacionadas: p27 y Sox2. Demostramos que p27 contribuye a la represión transcripcional de Sox2. La ausencia de p27 lleva a la represión defectiva de Sox2 en distintos tipos de tejidos, y a un silenciamiento incompleto y retardado de Sox2 durante la diferenciación de las células pluripotentes. En ausencia de p27, el tejido pituitario expresa niveles elevados de Sox2, y esta es la base para el desarrollo de tumores de la pituitaria.

Las fluctuaciones de NANOG están controladas epigenéticamente

Las células madre pluripotentes se caracterizan de forma especial por mantener un delicado equilibrio entre destinarse a la autorrenovación o a la diferenciación celular, equilibrio que se asocia a determinados niveles en la expresión de NANOG. Los niveles de NANOG en las células madre pluripotentes no son constantes, fluctúan asincrónicamente en cada célula individual. Aunque se conocía que Oct4 y Sox2 activan la transcripción de NANOG, poco era lo sabido acerca de la regulación negativa de su expresión. Hemos identificado la enzima Ezh2, una metiltransferasa responsable de la trimetilación de la histona 3 en el residuo lisina 27 (H3K27me3), como un importante regulador negativo de NANOG.[18] Hemos descubierto que el promotor de NANOG coexiste en dos configuraciones epigenéticas: una que porta la marca epigenética positiva H3K4me3 y otra que lleva la marca epigenética negativa H3K27me3. Las células iPS que carecen de Ezh2 tienen una capacidad para diferenciar y una subpoblación expandida de células con alta expresión de NANOG en comparación con las células iPS dotadas con Ezh2. Mientras que en algunos tipos de cáncer Ezh2 es oncogénico (próstata), en otros es un supresor (linfomas). La inactivación mutacional Ezh2 (observada en algunos linfomas) puede contribuir a aumentar la expresión de los niveles de NANOG, incrementando la capacidad de autorrenovación de las células cancerosas.

NANOG está vinculado a tumores derivados de los epitelios estratificados

Hemos encontrado que NANOG se expresa selectivamente en los epitelios estratificados (epidermis de la piel, revestimiento del esófago y epidermis de mucosas externas como la lengua).[19] Vimos que la sobreexpresión in vivo de NANOG se restringe a los epitelios estratificados, donde notamos un aumento en la proliferación celular y en la hiperplasia. NANOG regula específicamente la proliferación celular en estos tejidos mediante la unión y activación del promotor del gen AURKA, que codifica al factor mitótico Aurora quinasa A. Hemos mostrado que la sobreexpresión de AURKA recapitula los mismos efectos que la de NANOG en el esófago. La inactivación de NANOG en células derivadas de carcinomas de esófago y de carcinomas de células escamosas de la cabeza y el cuello conlleva una proliferación reducida, y la expresión de NANOG y AURKA correlacionan positivamente en los carcinomas de células escamosas (SCC).

NANOG favorece los carcinomas de células escamosas

Aún no se había establecido un vínculo directo entre NANOG y los SCC. Nosotros hemos observado que la sobreexpresión inducible de NANOG en los epitelios de

la piel de ratones favorece la conversión maligna de tumores de piel inducidos mediante carcinogénesis química, lo que lleva a una formación aumentada de SCC. Nuestros análisis de expresión génica en pieles premalignas indicaron que NANOG induce genes asociados a la transición epitelio-mesénquima (EMT). En queratinocitos primarios, el NANOG endógeno se une a los promotores de estos genes e induce rasgos de la EMT. Estos resultados proporcionan evidencia directa in vivo de la función oncogénica de NANOG en los epitelios estratificados.

Actividad reprogramadora de NANOGP8, un miembro de la familia de NANOG expresado ampliamente en cáncer

Las células humanas tienen once parálogos de NANOG, de los cuales solamente tres (NANOG1, NANOG2 y NANOGP8) codifican proteínas de longitud completa. Hemos encontrado que NANOGP8 se expresa en muchas líneas celulares de cánceres humanos y que es tan activa como NANOG1 en promover la reprogramación a pluripotencia.[20] Así pues, NANOGP8 puede contribuir al cáncer, posiblemente mediante la promoción de la desdiferenciación celular y/o la plasticidad.

Oncogenicidad del factor de transcripción de desarrollo Sox9

El factor de transcripción Sox9 desempeña funciones clave durante la embriogénesis y su actividad se requiere para el desarrollo, la diferenciación y establecimiento de linajes en varios tejidos, entre los que se encuentra el epitelio intestinal. Hemos recabado datos clínicos y funcionales que muestran una funcionalidad muy amplia de Sox9 en la tumorigénesis.[21] Sox9 se sobreexpresa en un amplio rango de cánceres humanos, donde su expresión correlaciona con el carácter de malignidad y la progresión. La ganancia de número de copias de Sox9 es detectable en algunos cánceres colorrectales primarios. Sox9 mostró varias propiedades prooncogénicas, entre las que se encuentran la habilidad para promover la diferenciación, inhibir la senescencia y colaborar con otros oncogenes en la transformación neoplásica. En los fibroblastos primarios de embriones de ratón y en las células de cáncer colorrectal, la expresión de Sox9 facilitó el crecimiento tumoral y la progresión, mientras que su inactivación reducía la tumorigenicidad. Hemos determinado que Sox9 se une directamente y activa al promotor de BMI1, cuya sobreactivación reprime el locus del supresor tumoral Ink4a/ARF. Los cánceres colorrectales humanos mostraron una correlación positiva entre los niveles de expresión de Sox9 y BMI1 y una negativa entre Sox9 y ARF en las muestras clínicas. En conjunto, nuestros resultados proporcionan una evidencia mecanística directa de la implicación de Sox9 en la patobiología de las neoplasias, particularmente en la del cáncer colorrectal.

Senescencia celular

Senescencia celular programada en el desarrollo embrionario

La senescencia celular está cogiendo impulso como aspecto importante de la remodelación tisular. La senescencia se había asociado hasta ahora al daño tisular accidental, no programado: así es como ocurre en ciertos estados patológicos como el cáncer. Nosotros hemos descubierto que la senescencia también acontece, y de una manera programada, durante el desarrollo embrionario de los mamíferos y que es partícipe activo en

múltiples procesos de remodelación tisular.[8] Nos centramos en el mesonefro y en el saco endolinfático del oído interno. La senescencia en estas dos estructuras depende estrictamente de p21, y es independiente del daño en el ADN, de p53, o de otros inhibidores del ciclo celular. También demostramos que las rutas de TGFβ/SMAD y PI3K/FOXO regulan la senescencia durante el desarrollo embrionario. A la senescencia embrionaria le sucede un posterior proceso de infiltración de macrófagos y eliminación de células senescentes, completándose así el ciclo de remodelación tisular. En ausencia de p21, la perdida de senescencia se compensa parcialmente mediante apoptosis, lo que implica anomalías en el desarrollo que son detectables. Los embriones humanos también presentan marcadores de senescencia en el mesonefro y en el saco endolinfático. Proponemos que la senescencia surgió durante el transcurso de la evolución como un proceso para la remodelación tisular, y que se adaptó después a la reparación tisular tras daño.

Inducción de senescencia celular mediante nutlina

El análisis del efecto de la nutlina nos permitió la identificación de senescencia inducida por este fármaco.[22] La nutlina es un activador selectivo de p53. En aproximadamente el 50% de los cánceres humanos se ha perdido la funcionalidad de p53 pero —y esto es de relevancia para nutlina— el 50% restante mantiene una p53 funcional. La activación de p53 por nutlina en determinadas células cancerosas provoca el suicidio celular o apoptosis. Sin embrago, no todas las células son proclives a la apoptosis tras la activación de p53; este es el caso de los fibroblastos y de las células cancerosas derivadas de estos. Encontramos que, tras tratamiento con nutlina, los fibroblastos y los fibrosarcomas no experimentan apoptosis, sino que experimentan un bloqueo proliferativo permanente conocido como senescencia celular. Dichos efectos son absolutamente dependientes de la presencia de p53 funcional, las células deficientes en p53 son insensibles a dosis elevadas de nutlina. Estos hallazgos prestan un apoyo adicional al uso potencial de nutlina como agente terapéutico para poder bloquear el crecimiento de canceres con p53 funcional.

Función de ATM en la senescencia inducida por oncogenes y en la supresión tumoral dependiente de p53

Se ha propuesto que la señalización oncogénica produce daño en el ADN y esto, a su vez, da como resultado senescencia celular dependiente de ATM/p53. Hemos ensayado esta propuesta en una diversidad de sistemas murinos experimentales,[23] y hemos concluido que en ratones la senescencia inducida por oncogenes puede darse en ausencia de una respuesta al daño en el ADN. Nuestros datos sugieren que ATM murino desempeña una función menor en la senescencia inducida por oncogenes o en la supresión tumoral dependiente de p53, y que su actividad supresora de tumores se encuentra restringida al mantenimiento de la estabilidad genómica.

Regulación de la actividad transcripcional de p53

MSK2 inhibe la actividad de p53 en ausencia de estrés

MSK2 es un regulador negativo de p53. Investigamos los mecanismos moleculares subyacentes a la inhibición de p53 por MSK2.[24] Encontramos que en ausencia de estímulos de estrés MSK2 suprimía selectivamente la expresión de un subconjunto de genes

diana de p53. La inhibición basal de p53 por MSK2 es independiente de su actividad quinasa y de la señalización de proteínas quinasas activadas por mitógenos en los tramos que preceden a MSK2. Observamos que los estímulos apoptóticos promovían la degradación de MSK2, aligerando así su inhibición de p53 y capacitando la eficiente activación dependiente de p53 del promotor de noxa. Nuestros hallazgos constituyen un nuevo mecanismo de regulación de la actividad transcripcional en respuesta a estrés.

Biogénesis ribosomal y estrés ribosomal en cáncer y en pluripotencia

La depleción de la proteína ribosomal L37 induce p53

La regulación de la actividad de p53 se alcanza primariamente mediante la protooncoproteína MDM2. La inhibición de la función de MDM2 es un requisito universal para la activación de p53. El p53 es un regulador importante de las rutas del daño en el ADN y la síntesis de proteínas, y el acoplamiento entre estos dos procesos puede ser de importancia en la prevención de la oncogénesis. La perturbación de la biogénesis ribosomal es la tercera ruta de activación de p53 relevante. A la depleción de ciertas riboproteínas le sigue la unión de RPL11 a MDM2, la inhibición de MDM2 y la activación de p53. Observamos que la depleción de RP L37 conduce a la parada del ciclo celular dependiente de L11 y p53.[25] Encontramos que las agresiones genotóxicas llevan a una estabilización de p53 dependiente de L11. Nuestro trabajo demostró que el daño en el ADN puede ser detectado mediante perturbaciones en la biogénesis ribosomal, vinculando el crecimiento y la división celular al estrés genotóxico vía p53.

Análisis del estrés ribosomal en las células pluripotentes

La biogénesis del ribosoma es el proceso que requiere más aporte de energía de entre todos los que acontecen en las células proliferativas, y se está estableciendo como un sensor crítico de la homeostasis celular. Si se perturba la biogénesis ribosomal, ciertas proteínas ribosomales libres, con preeminencia la proteína L11, se unen e inhiben a MDM2 (un regulador negativo del supresor tumoral p53), lo que provoca la activación de p53. Esta ruta ha sido caracterizada en células somáticas y en cancerosas, pero su función en las células pluripotentes embrionarias permanecía sin ser explorada. Nuestro grupo ha revelado ahora que el tratamiento con dosis baja de actinomicina D o la depleción de la proteína ribosomal L37, dos inductores de estrés ribosomal bien establecidos, activan de manera dependiente de L11 a p53 en las células madre embrionarias de ratón y en las células madre pluripotentes inducidas.[26] La activación de p53 conlleva la inducción transcripcional de las dianas de p53. Finalmente, el estrés ribosomal desencadena una respuesta de apoptosis, dependiente de L11 y de p53, en los tipos celulares anteriores. Nuestros resultados extienden a las células pluripotentes la funcionalidad de la ruta del estrés ribosomal, lo que nos permite especular que este podría ser un punto de control celular relevante durante la embriogénesis temprana.

Estrés ribosomal y activación no genotóxica de p53

Hay un gran interés en identificar agentes quimioterapéuticos que activen p53 de forma no genotóxica. La disrupción nucleolar es un mecanismo no genotóxico que

ocasiona la aparición de RPL11 libre, que se une e inhibe a MDM2 activando, por lo tanto, a p53. En colaboración con el Programa de Terapias Experimentales del CNIO, hemos identificado un grupo de acridinas que producen una disrupción nucleolar eficiente y activan p53 en ausencia de daño en el ADN.[27] Estas acridinas inhiben la transcripción de genes del ARN ribosomal en un proceso que incluye la degradación selectiva de la subunidad RPA194 de la ARN polimerasa I. Nuestros hallazgos proporcionan la base para aproximaciones quimioterapéuticas no genotóxicas que ataquen de forma selectiva al nucléolo.

Función in vivo del supresor tumoral Par-4

Identificación de Par-4 como un nuevo gen de supresión tumoral humano

Queríamos expandir el ámbito de intereses de mi laboratorio al componente inflamatorio que se sabe que es el iniciador y/o promotor de varios cánceres humanos, como los canceres de colon o de próstata. Nos centramos en la proteína proapoptótica y candidata a supresor tumoral Par-4 (*prostate apoptosis response 4*). Nuestros estudios previos habían establecido que Par-4 es un inhibidor de las proteínas quinasas C (PKC) atípicas y, de esta forma, atenúa dos de las más importantes rutas para la supervivencia celular, NFkB y Akt. Tras generar ratones carentes de Par-4, observamos que estos desarrollan espontáneamente tumores de espectro interesante y que afectan principalmente a la próstata de los ratones macho y al endometrio en los ratones hembra. Guiados por estas observaciones, hemos examinado el estatus de Par-4 en cánceres de endometrio humano y hemos descubierto que Par-4 se comporta ciertamente como un supresor tumoral en el cáncer de endometrio humano con una elevada tasa de inactivación (~30%) mediante hipermetilación del promotor.

El supresor tumoral Par-4 en cáncer de pulmón

Nuestra hipótesis fue que, en ausencia de Par-4, las células adquirirían unos niveles de señales de supervivencia anómalamente altos que favorecerían la progresión tumoral. Demostramos que Par-4 se halla altamente expresada en el tejido pulmonar humano, pero que dicha expresión se encuentra reducida en las muestras de cánceres de pulmón humanos. Empleando un modelo de ratón que desarrolla tumores de pulmón inducidos por el oncogén K-Ras, observamos que la ausencia de Par-4 aumenta drásticamente el número y la agresividad de los carcinomas pulmonares que se forman,[28] demostrando así genéticamente que Par-4 es una barrera importante para el cáncer de pulmón.

La inactivación simultánea in vivo de Par-4 y PTEN conduce a la activación sinergética de NF-kB y a carcinoma invasivo de próstata

El supresor tumoral Par-4 se encuentra altamente expresado en próstata. Hemos mostrado que la expresión de Par-4 se pierde en un porcentaje elevado de carcinomas de próstata humanos, y esto ocurre en asociación con pérdida de PTEN. Determinamos que los ratones carentes de Par-4, de manera similar a los ratones heterocigóticos para PTEN, solo desarrollan lesiones benignas de próstata, pero la ablación concomitante de Par-4 y la heterocigosidad para PTEN llevan en ratones al carcinoma invasivo de próstata.[29] Nuestros resultados establecieron que la cooperación entre Par-4 y PTEN es relevante para el desarrollo de cáncer de próstata e implica a la ruta de NF-kB como un evento clave en la tumorigénesis de la próstata.

Función en el páncreas del regulador del ciclo celular Sei1

Los ratones carentes del regulador del ciclo Sei1 tienen una proliferación y tumorigénesis normales pero su función pancreática está impedida

Sei1 es un regulador positivo de la proliferación que promueve el ensamblado de los complejos CDK4-ciclina D y aumenta la actividad transcripcional de E2f1. Se encuentra sobreexpresado en varios tipos de cánceres humanos. Hemos generado una cepa de ratón deficiente en Sei1.[30] Se sabe que las células pancreáticas productoras de insulina dependen particularmente de las actividades de CDK4, ciclina D y E2f1, y hemos observado que Sei1 está altamente expresada en los islotes pancreáticos en comparación con otros tejidos. Los ratones carentes de Sei1 presentaron un menor número de islotes pancreáticos, una disminución en el área de células β, secreción de insulina impedida e intolerancia a la glucosa. Concluimos que Sei1 desempeña una función importante en las células β pancreáticas, lo que apoya la existencia de un vínculo funcional entre Sei1 y los reguladores básicos del ciclo celular específicamente en el contexto del páncreas.

Sirt1 en cáncer, metabolismo y envejecimiento

Sirt1 protege frente al daño metabólico inducido por la dieta rica en grasas

Nuestra hipótesis es que aquellos genes que nos protegen frente al daño metabólico podrían también tener un efecto positivo en la protección frente al cáncer y el deterioro asociado al envejecimiento. Nos centramos en Sirt1 debido a la existencia de cierta evidencia indirecta que apuntaba a que esta deacetilasa de histonas pudiera ser clave en la protección del organismo frente a los efectos dañinos del metabolismo, un compuesto activador de Sirt1 es capaz en los ratones de conferir protección frente a una variedad de enfermedades derivadas de una dieta crónica rica en grasas. Generamos, para abordar esta cuestión de una manera genética, unos ratones transgénicos que sobreexpresan Sirt1 de forma moderada bajo el control de su propio promotor y siguiendo patrones fisiológicos de expresión.[31] Encontramos que nuestros ratones transgénicos Sirt1 están protegidos frente a la mayoría de los efectos patológicos de una dieta rica en grasas (HFD). Estos ratones tienen una menor inflamación inducida por lípidos y están protegidos frente a los efectos diabéticos de la dieta rica en grasas y por completo frente a la esteatosis hepática.

Sirt1 mejora el envejecimiento sano y protege frente al cáncer asociado al síndrome metabólico

A un nivel molecular, la protección frente al daño fisiológico ocasionado por una HFD observada en nuestros ratones transgénicos Sirt1 refleja la actividad de Sirt1 como regulador negativo de NF-κB y efector positivo de PGC1α y FoxO1. La exposición crónica a una HFD deriva en el llamado síndrome metabólico, que puede causar cáncer de hígado y fallo cardiaco. Hemos observado que nuestros transgénicos Sirt1 presentan menores niveles de daño en el ADN, una disminución en la expresión del gen asociado al envejecimiento p16Ink4a, una mejor salud en general y un menor número de carcinomas y sarcomas espontáneos.[32] Estos efectos, sin embargo, no son lo suficientemente potentes como para afectar a la longevidad. No obstante, Sirt1 sí tiene un efecto positivo en la salud en ratones viejos, como refleja el hecho de que los ratones transgénicos Sirt1 disfrutan

de una menor intolerancia a la glucosa, unos niveles de osteoporosis disminuidos y una menor incidencia de cáncer. Con respecto al cáncer de hígado asociado a la obesidad, los transgénicos Sirt1 mostraron un drástico aumento en la resistencia a esta patología. En su conjunto, nuestros datos demuestran la actividad supresora de tumores de Sirt1, que es particularmente potente en el caso del cáncer de hígado asociado a la obesidad.

Sirt1 favorece el cáncer de tiroides

Aunque existía evidencia genética en ratones acerca de la intensa actividad supresora tumoral de Sirt1 en una variedad de modelos de cáncer, no se disponía hasta la fecha de certeza de la actividad oncogénica in vivo de Sirt1. Hemos demostrado ahora que la expresión transgénica de Sirt1 es oncogénica en la carcinogénesis de próstata y de tiroides iniciada por la deficiencia en PTEN.[33] Hemos observado que Sirt1 incrementa los programas transcripcionales y que, en los cánceres de tiroides de los ratones transgénicos Sirt1, los niveles de c-Myc son mayores. De forma similar, Sirt1 está sobreexpresada en los cánceres de tiroides humanos y correlaciona positivamente con los niveles de proteína c-Myc. Hemos evidenciado también, en células de cáncer de tiroide en cultivo, que Sirt1 estabiliza a c-Myc. Nuestros resultados en conjunto implican a Sirt1 como una nueva diana candidata para el tratamiento del cáncer de tiroides.

Función del supresor tumoral PTEN en metabolismo y envejecimiento

El supresor tumoral PTEN regula positivamente la función de la grasa parda, el gasto de energía y la longevidad

Los supresores tumorales son mejor conocidos por su habilidad para conferir protección frente al cáncer. A un nivel más profundo, parecen proteger a las células frente a muchos tipos de daños, no necesariamente relacionados con el cáncer. Se disponía de evidencias de una protección simultánea frente al cáncer y frente al envejecimiento para los supresores tumorales p53, Ink4a y ARF. Hemos investigado ahora este paradigma en el supresor tumoral PTEN. La función preeminente de PTEN es la de contrarrestar la actividad de las fosfatidilinositol 3-quinasas tipo I (PI3K), que median las señales disparadas por la insulina, los factores de crecimiento del tipo de la insulina y otras moléculas generalmente involucradas en el crecimiento celular, el metabolismo, la supervivencia y la proliferación. Hemos generado unas cepas de ratones transgénicos que portaban copias genómicas de PTEN adicionales, los ratones PTEN-Tg.[34] Estos ratones PTEN-Tg muestran protección frente al cáncer y exhiben una extensión significativa de su periodo de vida que es independiente de su menor incidencia de cáncer. Los ratones PTEN-Tg poseen un gasto energético aumentado y una protección frente a patologías metabólicas. La grasa parda de estos ratones es hiperactiva y contiene niveles elevados de la proteína de desacoplamiento Ucp1, que hemos demostrado que es una diana del factor de transcripción Foxo1. Encontramos también que un inhibidor sintético de PI3K incrementa también el gasto energético e hiperactiva la grasa parda. Los efectos anteriores se pueden recapitular en adipocitos pardos aislados. Estas y otras observaciones nuestras han revelado la implicación de PTEN a la hora de promover el gasto de energía, disminuyendo así el almacenamiento de nutrientes y el daño asociado a este último proceso.

Estrategias terapéuticas para el carcinoma de pulmón de célula no pequeña (NSCLC)

Una nueva estrategia terapéutica para el NSCLC

Hemos descifrado una de las rutas moleculares tras el cáncer de pulmón y utilizado este conocimiento para identificar un fármaco experimental que en ratones bloqueaba el crecimiento de este cáncer. La desregulación de la ruta de señalización celular de Notch está implicada en numerosas enfermedades humanas, entre ellas el cáncer. En función del tipo celular, puede ser oncogénica o supresora de tumores. En el caso de NSCLC, se ha observado una elevada actividad de la ruta de Notch hasta en un 50% de cánceres, y esto se correlaciona con una prognosis pobre. Se han descrito también mutaciones de ganancia de función en un porcentaje pequeño de pacientes. Hemos empleado un modelo de ratón en el que Kras oncogénico se puede inducir experimentalmente en ratones adultos para producir NSCLC y hemos demostrado que una pérdida de función de la ruta de Notch simultánea a la activación del oncogén Kras previene completamente la generación de NSCLC.[35] La carcinogénesis de pulmón dirigida por Kras oncogénico es por lo tanto estrictamente dependiente de la presencia de una ruta de Notch funcional. Se conocía que los inhibidores de γ-secretasa (GSI) inhibían la ruta de Notch. De manera relevante, hemos encontrado que, tras quince días de tratamiento con un GSI —proporcionado por Eli Lilly—, los NSCLC promovidos por Kras detenían su crecimiento. Para estos ensayos hemos hecho un diagnóstico y seguimiento de los carcinomas de pulmón en ratón usando TEP/TC, de la misma manera que se hace con pacientes humanos.

Genética de la longevidad humana

El gen APOB contribuye a la longevidad excepcional familiar

La longevidad excepcional (EL) es un fenotipo raro que puede concentrarse en familias. En colaboración con la Unidad de Genotipado-CEGEN del CNIO y la Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF), hemos secuenciado un total de siete exomas de individuos excepcionalmente longevos (mayores de cien años) provenientes de tres familias no relacionadas con al menos dos hermanos centenarios.[36] Nos hemos centrado en las variantes funcionales raras (RFV) y observado que solo un único gen, APOB, portaba RFV en todos los miembros de las tres familias. APOB codifica un componente de las lipoproteínas transportadoras de colesterol y triglicéridos junto con el gen APOE, y variaciones en estos dos genes se han asociado previamente a la longevidad humana. También hemos identificado genes candidatos de longevidad compartidos entre dos familias o en el seno de familias individuales. Nuestro trabajo proporciona un catálogo inicial de genes que pueden contribuir a la longevidad familiar excepcional.

Reflexiones finales

Han pasado algo más de veinte años desde el descubrimiento de p16 en 1993, y desde entonces es mucho lo que se ha avanzado en entender su función. La historia de CDKN2A/B ejemplifica muy bien el proceso científico. Por brevedad no he entrado en los debates y controversias científicas que ha habido en el camino, como no podía ser de

otra manera. Estos vaivenes fueron una gran experiencia para mí, ya que viví en primera persona, y a veces como protagonista, cómo se va construyendo colectivamente el relato científico. También ilustra la enorme dificultad que conlleva convertir los descubrimientos del laboratorio en aplicaciones médicas. Aun así, lo importante es que las aplicaciones finalmente llegan. Y esto me lleva a una obviedad que, sin embargo, a veces se olvida: si no hay descubrimientos en el laboratorio no hay nada que convertir en aplicaciones médicas. Además, cada avance genera nuevas preguntas, generalmente insospechadas, que nos conducen siempre a terreno desconocido y, en este sentido, puede decirse que en la investigación no hay lugar para el aburrimiento.

Bibliografía:

1. M. Serrano, G. Hannon y D. Beach, «A new regulatory motif in cell-cycle control causing specific inhibition of cyclin D/CDK4», en *Nature*, vol. 336, 1993, pp. 704-707.

2. M. Serrano, E. Gómez-Lahoz, R. A. DePinho, D. Beach y D. Bar-Sagi, «Inhibition of ras-induced proliferation and cellular transformation by p16INK4», en *Science*, vol. 267, 1995, pp. 249-252.

3. M. Serrano, H.-W. Lee, L. Chin, C. Cordon-Cardo, D. Beach y R. A. DePinho, «Role of the *INK4a* locus in tumor suppression and cell mortality», en *Cell*, vol. 85, 1996, pp. 27-37.

4. M. Serrano, A. W. Lin, M. E. McCurrach, D. Beach y S. W. Lowe, «Oncogenic *ras* provokes premature cell senescence associated with accumulation of p53 and p16INK4a», en *Cell*, vol. 88, 1997, pp. 593-602.

5. I. Palmero, C. Pantoja y M. Serrano, «P19ARF links the tumour suppressor p53 to Ras», en *Nature*, vol. 395, 1998, pp. 125-126.

6. A. Efeyan, I. García-Cao, D. Herranz, V. Velasco-Miguel y M. Serrano, «Policing of oncogene activity by p53», en *Nature*, vol. 443, 2006, p. 159.

7. M. Collado, J. Gil, A. Efeyan, C. Guerra, A. J. Schumacher, M. Barradas, A. Benguría, A. Zaballos, J. M. Flores, M. Barbacid, D. Beach y M. Serrano, «Senescence in premalignant tumours», en *Nature*, vol. 436, 2005, p. 642.

8. D. Muñoz-Espín, M. Cañamero, A. Maraver, G. Gómez-López, J. Contreras, S. Murillo-Cuesta, A. Rodríguez-Baeza, I. Varela-Nieto, J. Ruberte, M. Collado y M. Serrano, «Programmed cellular senescence during embryonic development», en *Cell*, vol. 155, 2013, pp. 1104-1118.

9. A. Matheu, C. Pantoja, A. Efeyan, L. M. Criado, J. Martín-Caballero, J. M. Flores, P. Klatt y M. Serrano, «Increased gene dosage of Ink4a/ARF results in cancer resistance and normal aging», en *Genes Dev*, vol. 18, 2004, pp. 2736-2746.

10. A. Matheu, A. Maraver, P. Klatt, I. Flores, I. García-Cao, C. Borrás, J. M. Flores, J. Viña, M. A. Blasco y M. Serrano, «Delayed aging through damage protection by the ARF/p53 pathway», en *Nature*, 448, 2007, pp. 375-379.

11. A. Matheu, A. Maraver, M. Collado, I. García-Cao, M. Cañamero, C. Borrás, J. Flores, M. Klatt, P. J. Viña y M. Serrano, «Anti-aging activity of the Ink4/ARF locus», en *Aging Cell*, vol. 8, 2009, pp. 152-161.

12. H. González-Navarro, Y. N. Abu Nabah, A. Vinué, M. J. Andrés-Manzano, M. Collado, M. Serrano y V. Andrés, «p19ARF deficiency reduces macrophage and vascular smooth muscle cell apoptosis and aggravates atherosclerosis», en *J Am Coll Cardiol*, vol. 55, 2010, pp. 2258-2268.

13. H. González-Navarro, A. Vinué, M. J. Sanz, M. Delgado, M. A. Pozo, M. Serrano, D. J. Burks y V. Andrés, «Increased dosage of *Ink4/ARF* protects against glucose intolerance and insulin resistance associated with aging», en *Aging Cell*, vol. 12, 2013, pp. 102-111.

14. S. González, D. G. Pisano y M. Serrano, «Mechanistic principles of chromatin remodeling guided by siRNAs and miRNAs», en *Cell Cycle*, vol. 7, 2008, pp. 2601-2608.

15. H. Li, M. Collado, A. Villasante, K. Strati, S. Ortega, M. Cañamero, M. A. Blasco y M. Serrano, «The Ink4/ARF locus is a barrier for iPS cell reprogramming», en *Nature*, vol. 460, 2009, pp. 1136-1139.

16. M. Abad, L. Mosteiro, C. Pantoja, M. Cañamero, T. Rayon, I. Ors, O. Graña, D. Megías, O. Domínguez, D. Martínez, M. Manzanares y S. Ortega, «Reprogramming *in vivo* produces teratomas and iPS cells with totipotency features», en *Nature*, vol. 502, 2013, pp. 340-345.

17. H. Li, M. Collado, A. Villasante, A. Matheu, C. J. Lynch, M. Cañamero, K. Rizzoti, C. Carneiro, G. Martínez, A. Vidal, R. Lovell-Badge y M. Serrano, «P27Kip directly contributes to Sox2 transcriptional repression during embryonic stem cell differentation», en *Cell Stem Cell*, vol. 11, 2012, pp. 845-852.

18. A. Villasante, D. Piazzolla, H. Li, G. Gómez-López, M. Djabali y M. Serrano, «Epigenetic regulation of Nanog expression by Ezh2 in pluripotent stem cells», en *Cell Cycle*, vol 10, 2010, pp 1488-1498.

19. D. Piazzolla, A. R. Palla, C. Pantoja, M. Cañamero, I. P. de Castro, S. Ortega, G. Gómez-López, O. Domínguez, D. Megías, G. Roncador, J. L. Luque-García, B. Fernández-Tresguerres, A. F. Fernández, M. F. Fraga, M. Rodríguez-Justo, M. Manzanares, M. Sánchez-Carbayo, J. M. García-Pedrero, J. P. Rodrigo, M. Malumbres y M. Serrano, «Lineage-restricted function of the pluripotency factor NANOG in stratified epithelia», en *Nat Commun*, vol. 5, 2014, p. 4226.

20. A. R. Palla, D. Piazzolla, M. Abad, H. Li, O. Domínguez, H. B. Schonthaler, E. F. Wagner y M. Serrano, «Reprogramming activity of NANOGP8, a NANOG family member widely expressed in cancer», en *Oncogene*, vol. 33, n.º 201, pp. 2513-2519.

21. A. Matheu, M. Collado, C. Wise, L. Manterola, L. Cekaite, A. J. Tye, M. Cañamero, L. Bujanda, A. Schedl, K. S. E. Cheah, R. I. Skotheim, R. A. Lothe, A. López de Munain, J. Briscoe, M. Serrano y R. Lovell-Badge, «Oncogenicity of the developmental transcription factor Sox9», en *Cancer Res*, vol. 72, 2012, pp. 1301-1315.

22. A. Efeyan, A. Ortega-Molina, S. Velasco-Miguel, D. Herranz, L. T. Vassilev y M. Serrano, «Induction of p53-dependent senescence by the MDM2 antagonist nutlin-3a in mouse cells of fibroblast origin», en *Cancer Res*, vol. 67, 2007, pp. 7350-7357

23. A. Efeyan, M. Murga, B. Martínez-Pastor, A. Ortega-Molina, R. Soria, M. Collado, O. Fernández-Capetillo y M. Serrano, «Limited role of murine ATM in oncogene-induced senescence and p53-dependent tumor suppression», en *PLoS One*, vol. 4, 2009, e5475.

24. S. Llanos, A. Cuadrado y M. Serrano, «MSK2 inhibits p53 activity in the absence of stress», en *Sci Signal*, vol. 2, 2009, ra57.

25. S. Llanos y M. Serrano, «Depletion of ribosomal protein L37 occurs in response to DNA damage and activates p53 through the L11/MDM2 pathway», en *Cell Cycle*, vol. 9, n.º 19, 2010, pp. 4005-4012.

26. L. Morgado-Palacín, S. Llanos y M. Serrano, «Ribosomal stress induces L11- and p53-dependent apoptosis in mouse pluripotent stem cells», en *Cell Cycle*, vol. 11, 2012, pp. 503-510.

27. L. Morgado-Palacín, S. Llanos, M. Urbano, C. Blanco-Aparicio, D. Megías, J. Pastor y M. Serrano, «Non-genotoxic activation of p53 through the RPL11-dependent ribosomal stress pathway», en *Carcinogenesis*, vol. 35, n.º 12, 2014, pp. 2822-2830.

28. J. Joshi, P. J. Fernández-Marcos, A. Gálvez, R. Amanchy, J. F. Linares, A. Durán, P. Pathrose, M. Leitges, M. Cañamero, M. Collado, C. Salas, M. Serrano, J. Moscat y M. T. Díaz-Meco, «Par-4 inhibits Akt and suppresses Ras-induced lung tumorigenesis», en *EMBO J*, vol. 27, 2008, pp. 2181-2193.

29. P. J. Fernández-Marcos, S. Abu-Baker, J. Joshi, A. Gálvez, E. A. Castilla, M. Cañamero, M. Collado, C. Sáez, G. Moreno-Bueno, J. Palacios, M. Leitges, M. Serrano, J. Moscat y M. T. Díaz-Meco, «Simultaneous inactivation of Par-4 and PTEN in vivo leads to synergistic NF-kappaB activation and invasive prostate carcinoma», en *PNAS*, vol. 106, 2009, pp. 12962-12967.

30. P. J. Fernández-Marcos, C. Pantoja, A. González-Rodríguez, N. Martín, J. M. Flores, A. M. Valverde, E. Hara y M. Serrano, «Normal proliferation and tumorigenesis but impaired pancreatic function in mice lacking the cell cycle regulator sei1», en *PLoS One*, vol. 5, n.º 1, 2010, e8744.

31. P. Pfluger, D. Herranz, S. Velasco-Miguel, M. Serrano y H. Tschop, «Sirt1 protects against high fat diet-induced metabolic damage», en *PNAS*, vol. 105, 2008, pp. 9793-9798.

32. D. Herranz, M. Muñoz-Martín, M. Cañamero, F. Mulero, B. Martínez-Pastor, O. Fernández-Capetillo y M. Serrano, «Sirt1 improves healthy ageing and protects from metabolic syndrome-associated cancer», en *Nat Commun*, vol. 1, 2010, p. 3. DOI: 10.1038/ ncomms1001

33. D. Herranz, A. Maraver, M. Cañamero, G. Gómez-López, L. Inglada-Pérez, M. Robledo, E. Castelblanco, X. Matías-Guiu y M. Serrano, «Sirt1 promotes thyroid carcinogenesis driven by PTEN deficiency», en *Oncogene*, vol 32, 2013, pp. 4052-4056.

34. A. Ortega-Molina, A. Efeyan, E. López-Guadamillas, M. Muñoz-Martín, G. Gómez-López, M. Cañamero, F. Mulero, J. Pastor, S. Martínez, E. Romanos, M. M. González-Barroso, E. Rial, A. M. Valverde, J. R. Bischoff, y M. Serrano, «PTEN positively regulates brown adipose function, energy expenditure and longevity», en *Cell Metab*, vol. 15, 2012, pp. 382-394.

35. A. Maraver, P. J. Fernández-Marcos, D. Herranz, M. Muñoz-Martín, G. Gómez-López, M. Cañamero, F. Mulero, D. Megías, M. Sánchez-Carbayo, J. Shen, M. Sánchez-Céspedes, T. Palomero, A. Ferrando y M. Serrano, «Therapeutic effect of g-secretase inhibition in KrasG12V-driven non-small cell lung carcinoma through derepression of DUSP1 phosphatase and inhibition of ERK», en *Cancer Cell*, vol. 22, 2012, pp. 222-234.

36. T. P. Cash, G. Pita, O. Domínguez, M. R. Alonso, L. T. Moreno, C. Borrás, L. Rodríguez-Mañas, C. Santiago, N. Garatachea, A. Lucía, J. A. Avellana, J. Viña, A. González-Neira y M. Serrano, «Exome sequencing of three cases of familial exceptional longevity», en *Aging Cell*, 2014. DOI: 10.1111/acel.12261

Patentes gestionadas por la Fundación Botín

Inventores: M. Serrano Marugán, J. Pastor Fernández, S. Martínez González, A. Ortega Molina, J. R. Bischoff y J. Oyarzabal Santamarina (2011).

Propietario: Fundación Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas Carlos III.

Invención: nuevo uso de los inhibidores PI3K.

Número: PCT/GB2011/051030.

LUIS SERRANO

CAMBIANDO, SIEMPRE CAMBIANDO

13

Lo que Pedro García Barreno nos ha pedido no es fácil. Escribir una autobiografía científica es algo delicado. Hay que tener cuidado de no elegir únicamente los éxitos de una vida e incorporar también las dudas y los fracasos; además, no hay que detenerse demasiado en las cuestiones personales. Más aun cuando no podemos escribir un libro, pero tampoco un resumen de una página. Dicho esto, confiaré en la inspiración y haré lo que pueda.

Quizá sea cierto que nuestra infancia y nuestra adolescencia tienen un gran peso en lo que hacemos después, puede que también junto a una pizca de genética. En las dos ramas de mi familia hay médicos y farmacéuticos, algunos de ellos bien conocidos, por lo menos en algunas provincias de España, como el médico Rodríguez, que tiene un busto en La Coruña. Es posible que, como muchos miembros de mi generación, mis progenitores procedieran de los dos bandos enfrentados en la Guerra Civil. Mi familia paterna, compuesta por terratenientes de Guadalajara, fue casi toda fusilada por los republicanos. Por su parte, la de mi madre pertenecía a la intelectualidad coruñesa y mi bisabuelo, secretario del ayuntamiento, fue fusilado por los nacionales. Yo nací en Madrid y pasaba todos los veranos en una finca de Guadalajara, cercana a Cuenca, con otros once primos. Era una casa solariega sin agua corriente, y la que había la traía el guardés en mula desde una fuente cercana; tampoco había frigorífico ni televisión, así que nos pasábamos el mes de agosto jugando al aire libre, haciendo excursiones o bañándonos en el río. Tuve la oportunidad de vivir en el campo y me encantaba la naturaleza. Sin embargo, a pesar de lo mucho que me gustaban los bosques y los animales, no me atraía ser naturalista. Tengo que reconocer que en el colegio no destaqué mucho. Solía suspender tres o cuatro asignaturas al mes, pero siempre tuve suerte, porque al final del año aprobaba. Únicamente hubo un año en el que suspendí inglés y me pasé todo el verano estudiando con un profesor y con mi padre. Solo fui buen estudiante en los últimos tres años de estudios. Quizá fuera por mis profesores de Biología, o porque tuve Química, Física y Biología, materias que me encantaban. La cuestión es que pasé de estar entre los peores alumnos a situarme entre los mejores, y el último año de colegio fui el primero de la clase. Esto podría demostrar la importancia de contar con buenos profesores y de estudiar materias que suscitan el interés de los alumnos. En mis últimos meses de estudios no sabía bien qué quería hacer, pero había dos carreras que me atraían: Biología y Medicina. Estaba indeciso, y mi padre consiguió meterme en un quirófano para comprobar si podía superar la visión de la sangre. En cualquier caso, cuando llegó el momento de elegir carrera yo seguía sin decidirme, así que lo eché a suerte con una moneda y salió Biología. Así es como comencé a estudiar Biología en la Complutense. Tengo que reconocer que el primer año no fue muy emocionante. Más que nada, lo que hicimos fue recapitular lo que yo ya había estudiado en el último año de colegio. De no ser porque hice un buen amigo, Alfonso Valencia —que en la actualidad es una figura relevante en bioinformática—, me habría desesperado. Las cosas mejoraron un poco

en segundo, pero no dejaba de estar en la típica universidad española, con muchas clases magistrales, pocas prácticas y mucha memorización. Estudié y saqué buenas notas, pero, sinceramente, la universidad no me entusiasmaba. Por fortuna, y aquí hay que recalcar de nuevo el papel de los buenos profesores, tuve uno de genética en tercero o cuarto —no recuerdo— al que llamábamos «Nano». Con él había dos formas de aprobar. La primera era con los típicos exámenes y la nota máxima era sobresaliente; la otra conllevaba un trabajo de investigación con el que se podía acceder a una matrícula de honor.

Formando un equipo, Alfonso y yo optamos por el trabajo de investigación. De repente nos vimos en la biblioteca del antiguo Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) revisando índices y buscando un tema de estudio. Fue fascinante. Leer artículos de verdad y pensar en el trabajo me abrió los ojos, así que concluí que me gustaba la investigación. Ahora resulta gracioso pensar en ese trabajo; tenía que ver con la evolución de un virus y cómo un poco de ADN puede codificar dos proteínas superpuestas, y en la actualidad mi equipo trabaja con microbacterias que también presentan genes superpuestos. Alfonso y yo superamos los cinco años de carrera, conocimos a nuestras futuras esposas en esa época y también hicimos juntos el servicio militar. Los dos fuimos a una academia militar con las milicias universitarias y accedimos al rango de alférez, aunque a mí me rebajaron de categoría y pasé tres meses más en un batallón disciplinario. Todo eso nos sirvió para no perder ningún año de carrera y poder acabarla a tiempo. Al recordarlo, es curioso comprobar lo ignorantes que éramos. En la facultad nadie nos había explicado qué era una carrera científica, ni tampoco sabíamos lo importante que era hacer el doctorado en un buen laboratorio o estudiar en el extranjero. Por casualidad entramos en el Departamento de Genética de la Complutense con la doctora Lola Ochando para hacer un máster en ese tema.

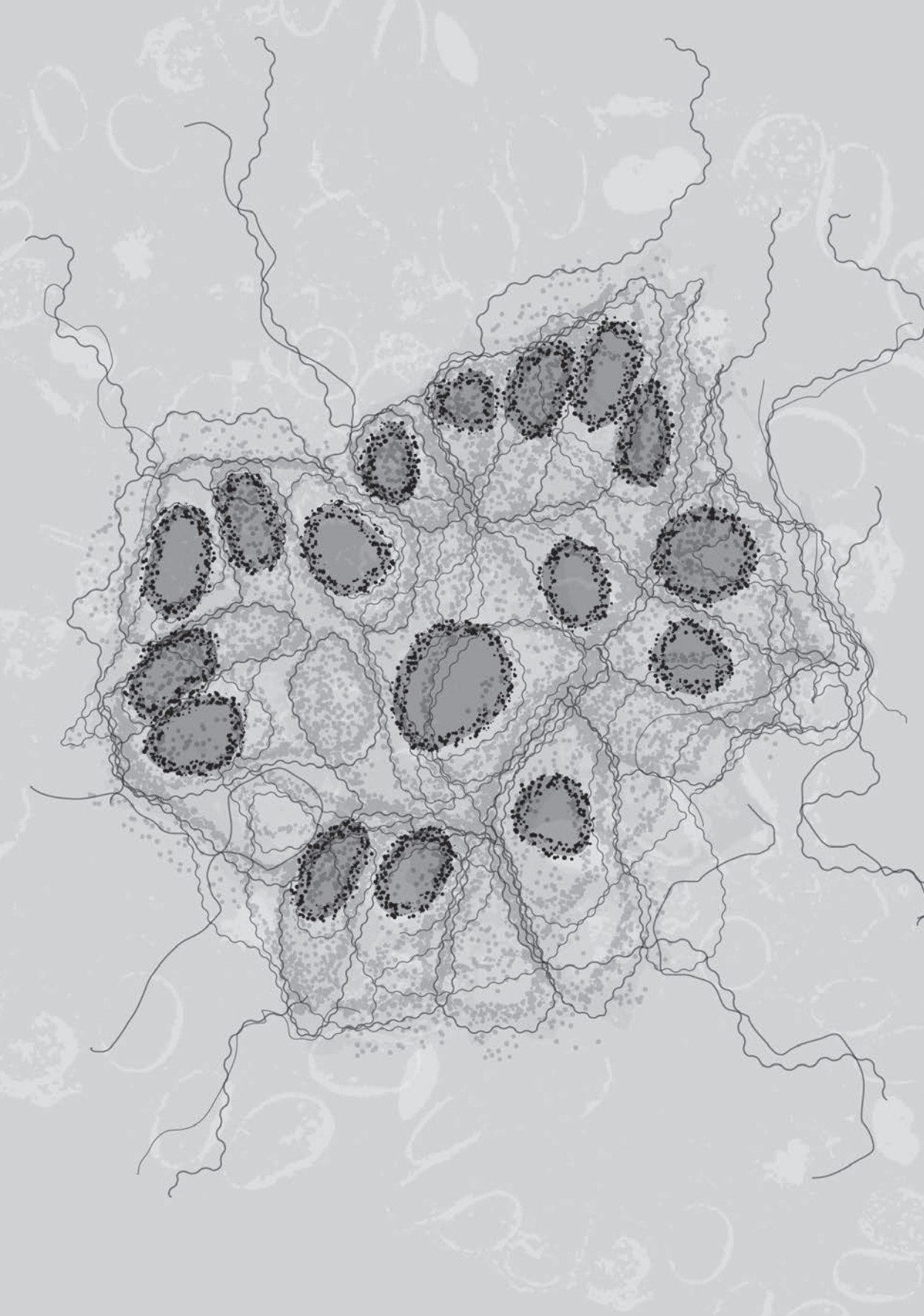
Fue interesante porque, por primera vez, estaba investigando, y Alfonso y yo formábamos equipo dentro del proyecto. Nuestro tema de investigación tenía que ver con la energía sexual de las poblaciones naturales de *Drosophila melanogaster*. Nos desplazamos a Almería a cazar moscas y después estudiamos su vida sexual ante machos o hembras de otras poblaciones. También aprendimos a observar los cromosomas de las glándulas salivares y realizamos un estudio sobre inversiones y duplicaciones. Todavía estoy orgulloso de mi tesina de fin de máster, que, totalmente obra mía, consistió en poner moscas en una placa de Petri conectada a otra, para después estudiar el efecto que tenía la falta de comida o de actividad sexual en la migración y hasta qué punto la tendencia a migrar podía ser hereditaria. Después de algunos divertidos episodios, como aquel en el que Alfonso y yo inundamos una sala del piso de abajo donde guardaban preparados elaborados por el mismísimo Ramón y Cajal, terminamos nuestra tesina de máster y decidimos hacer el doctorado. Una vez más estábamos totalmente perdidos y la suerte se encarnó en un amigo, Gerardo Pisabarro, que entró en nuestro laboratorio y mencionó que el Centro de Biología Molecular (CBM) era un buen sitio para hacer un doctorado. Alfonso y yo acudimos al CBM y nos entrevistamos con diversas personas. En esa época también tuvimos la posibilidad de convertirnos en profesores ayudantes del Departamento de Genética de la Complutense. Como mi expediente era mejor que el de Alfonso y podía conseguir una beca, los dos decidimos que yo entraría en el CBM y Alfonso se quedaría en la universidad. Así es como me aceptaron en calidad de estudiante de doctorado en el equipo de Jesús Ávila. Todavía recuerdo mi primer día,

cuando me enseñó un gel de SDS y me preguntó mi opinión al respecto, que por supuesto no podía darle, y me dijo que esa debía ser la última vez que no pudiera responderle. Mi tesis de doctorado se centró en el análisis de diferentes isoformas de tubulina mediante isoelectroenfoque. Los comienzos fueron difíciles. Como no teníamos mucho dinero, recuerdo que iba, junto con otros compañeros del laboratorio, como Francisco Wandosell y Esteban Montejo, a robar tubos eppendorf y puntas de pipeta al laboratorio de Margarita Salas, o que reutilizábamos las puntas que ya teníamos. Sin embargo, la situación económica de España estaba mejorando y, pasado un año, tuvimos una cantidad razonable de dinero para investigar. Era realmente apasionante, teníamos un equipo excelente —con María Ángeles, Paco y Esteban— y proyectos secretos de los que únicamente le hablábamos a Jesús cuando salían bien. De hecho, de los doce artículos que publiqué de mi tesis, solo uno procedía directamente del proyecto inicial. Entonces se presentó en el laboratorio Ricardo Maccioni, un investigador chileno. Tenía interés en observar los dominios estructurales de la tubulina mediante una proteólisis limitada. Entré en ese proyecto y comencé a descomponer tubulina con tripsina y quimotripsina, en presencia de fármacos, entre otras cosas, con tubulina polimerizada. Un día decidimos probar otra proteasa: la subtilisina. Descubrí que poco después de comenzar la descomposición, la solución tampón se tornaba ligeramente turbia y al utilizar un gel descubrí que faltaba un poco de tubulina. En el microscopio electrónico descubrimos que al retirar el último aa de la tubulina, esta proteína se polimerizaba espontáneamente, formando microtúbulos sin proteínas asociadas (MAP). Habíamos descubierto que la tubulina C-terminal tenía que ver con la regulación de la polimerización de la tubulina, y posteriormente comprobamos que muchas MAP tenían que ver con esta parte de la proteína. Fue una auténtica revelación que nos ayudó enormemente a comprender cómo se regulaba la formación de los microtúbulos. En esa época asistí a un curso de doctorado impartido por mi director de tesis sobre proteínas y, como proyecto de investigación, propuse el diseño de una molécula que cambiara de estructura al fijar el calcio. Leí varios artículos sobre la estructura de las proteínas y me gustó la idea de diseñarlas. Entretanto, solicité una beca posdoctoral en el laboratorio estadounidense de David Baltimore para estudiar ratones transgénicos con diversas mutaciones C-terminal. Obtuve la beca Fulbright y ya estaba dispuesto a irme cuando comprendí que a mi esposa Isabelle Vernos, que estaba haciendo la tesis con Roberto Marco, aún le quedaban más de dos años para terminar. Entonces cancelé la beca y decidí aceptar un año de beca posdoctoral bastante provechosa con Jesús. Para no estar demasiado lejos decidí hacer un posdoctorado en Reino Unido, estudiando el campo, por entonces nuevo, del diseño de proteínas. Como no tenía ni idea de qué laboratorios eran buenos en esa materia, consulté los consejos editoriales de *Protein Engineering Design and Selection* y *Protein Science* y me dirigí a todos los miembros residentes en Reino Unido. Para mi sorpresa, todos me aceptaron y, cuando ya estaba listo para integrarme en un equipo que trabajaba en anticuerpos, un excompañero de laboratorio de Jesús nos habló de Alan Fersht, que estaba trabajando en el Imperial College en plegamiento de proteínas. Cambié de opinión y, a finales de 1987, acepté la oferta de Alan, de manera que me encontré de camino a Reino Unido con una beca de la European Molecular Biology Organization (EMBO).

Cuando llegué a Londres mediaba febrero y tuve la fortuna de que Cayetano González y Salud Llamazares, que estaban en el CBM y que habían llegado antes, me acogieran en

su casa durante unos días hasta que encontré alojamiento. Fue una época deprimente: llovía todo el día, mi futuro jefe estaba enfermo y los colegas del laboratorio me habían dejado claro que tenían sus áreas de investigación y que yo no debía entrometerme. En ese Londres lluvioso, yo tenía una habitación sin baño y, como única compañía, una tetera. Además de la depresión personal, los primeros meses fueron difíciles, ya que no sabía de biología molecular y mi proyecto conllevaba el diseño de mutantes a partir de la barnasa, la proteína favorita de Alan. Eso era antes de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), y estábamos creando mutaciones del fago M13 utilizando oligonucleótidos, para después buscar el mutante en placas de Petri utilizando un oligonucleótido P32 y haciendo lavados a diversas temperaturas. Me costó un tiempo aprender la técnica y también comprender el inglés de mi jefe y sus bromas sobre los españoles. Encontré mi hueco e hice trascendentales descubrimientos sobre la estructura de las proteínas, como el papel del N-terminal y el C-terminal de las hélices en la estabilidad, o sobre cómo cuantificar la contribución de los grupos hidrofóbicos a la estabilidad termal. Pero mi principal logro se produjo cuando formé equipo con Andreas Matouschek, un estudiante de doctorado alemán. Juntos describimos por primera vez el sistema de plegamiento de una proteína, un trabajo que se publicó en seis artículos del mismo número de *Journal of Molecular Biology* (*J Mol Biol*). Fue una época fascinante en la que la posibilidad de cambiar a voluntad los aminoácidos de una proteína nos permitió jugar con esas moléculas e intentar comprender de qué manera la secuencia lineal de un polipéptido llevaba cifrada su estructura tridimensional. En cierto modo, algo similar está ahora ocurriendo con la biología sintética y la capacidad para diseñar genomas. Durante esta época solicité y conseguí una plaza en el CSIC, pero pensé que era demasiado pronto para regresar a España.

En total estuve cuatro años en Reino Unido, uno en Londres y tres en Cambridge. Tuve la opción de convertirme en investigador del Medical Research Council (MRC) y mi esposa Isabelle también había solicitado un trabajo en Cambridge. Cuando nadie lo esperaba, Ramón Serrano, que estaba en el European Molecular Biology Laboratory (EMBL) de Heidelberg, se puso en contacto conmigo. Conocía a Ramón de mi época de doctorando. Como los dos teníamos el mismo apellido, alguna vez yo recibía su correspondencia y él la mía. Cuando entró en contacto conmigo, Ramón se iba del EMBL y quería que allí hubiera otro jefe de grupo español. En esa época yo no conocía el EMBL, y la idea de ir a Alemania no nos atraía mucho. Así que decidimos que si Isabelle conseguía el trabajo de Cambridge nos quedaríamos en el Reino Unido y que, de no ser así, iríamos al EMBL. Isabelle obtuvo una excelente puntuación pero la reducción del presupuesto impidió que la contrataran, así que nos trasladamos a Heidelberg. Me convertí en jefe de grupo en el programa de Biología Estructural y Computacional e Isabelle comenzó a trabajar como posdoctorando con Erik Karsenty. Fue una época estimulante, ya que por primera vez iba a dirigir mi propio equipo. Comencé con un estudiante de doctorado, Víctor Muñoz, que había hecho su tesina de máster conmigo en Cambridge; con Jesús Prieto, un posdoctorando —también amigo de la universidad— y con la técnico Deborah. Estar en el EMBL era como un sueño: tenía dinero para pagar sueldos, comprar equipo e investigar, además de excelentes instalaciones y un ambiente estupendo. La gente hablaba de ciencia en la cantina, celebrábamos fiestas en el Operon Foyer, los viernes nos reuníamos para tomar cerveza, había seminarios... En esa época, Philipson era el director general y el momento era estimulante porque el EMBL



aún era una institución joven. Decidí seguir trabajando en plegamiento de proteínas, pero también comencé a diseñarlas, algo con lo que siempre había soñado.

Como en esa época no había buenos programas de diseño de proteínas, la gente se lanzaba sin más a ese apasionante y novedoso campo. Así que cambié la barnasa por la proteína quimiotáctica CheY, estructuralmente relacionada con la p21 ras. Lo que yo pretendía era introducir un sitio de fijación de GTP en CheY, y estudiar también su plegamiento. En aquel tiempo conocí en una reunión a Manuel Rico y a su equipo, de Madrid, y descubrí el mundo de la resonancia magnética nuclear (RMN). El equipo de Manuel era pionero en la aplicación de la RMN al estudio de fragmentos de proteína en solución. Tuve bastante suerte, ya que Francisco Blanco, que había hecho la tesis con Manuel, se unió a mi equipo en calidad de posdoctorando. Contando con él, con Víctor y con la estudiante mexicana Marina Ramírez, comenzamos a observar los péptidos que se plegaban por sí solos hasta formar horquillas beta o hélices alfa. Descubrimos el primer péptido que se plegaba formando una horquilla. También con Víctor creamos el programa informático AGADIR, que todavía utilizan muchos científicos, y que podía pronosticar la tendencia de las secuencias de aminoácidos a plegarse en hélices alfa. El hallazgo de que secuencias cortas de péptidos podían plegarse parcialmente sin el resto de la proteína sentó las bases para el desarrollo de programas de diseño de proteínas muy fructíferos, como el del equipo de David Baker. También descubrimos que podíamos diseñar proteínas termoestables simplemente estabilizando su estructura secundaria. Algunos años después, el doctorando Emmanuel Lacroix se unió a mi equipo para trabajar en el desarrollo de un programa de diseño por ordenador que denominamos PERLA. Fue la base del algoritmo de diseño de proteínas llamado FoldX, que en la actualidad utilizan muchos equipos diferentes. Ahora sabemos que siempre que tengamos proteínas con buenas estructuras podremos dotarlas de gran estabilidad y capacidad de fijación, y esto es posible gracias a los descubrimientos realizados por mi equipo y por otros en esa época.

En 1998 me ascendieron a jefe de grupo sénior en el EMBL y, siempre que superara las evaluaciones externas, podría obtener un contrato indefinido. Mi equipo seguía trabajando en el plegamiento y diseño de proteínas, pero a mí me atraía una nueva disciplina que estaba empezando a dar sus primeros pasos en esa época y que aún no tenía ni nombre. Posteriormente, y después de cierta polémica, se conocería con el nombre de «biología de sistemas». La razón de que decidiera indagar por ahí fue un artículo de opinión publicado en *Nature* en el que se planteaba la posibilidad de combinar la biología y los modelos informáticos para comprender cuantitativamente los sistemas biológicos. En el EMBL había otro equipo, el de Eric Karsenti, que, también interesado en esa idea, había invitado al centro a Stan Leibler, un físico francés que trabajaba en Estados Unidos. A decir verdad, por aquel entonces yo no tenía ni idea de qué conllevaba la biología de sistemas y tampoco sabía de modelos informáticos, pero me fascinaba la perspectiva de comprender un organismo hasta el punto de poder reproducirlo. En cierto modo, era como diseñar una proteína pero con un animal. En esa etapa tuve la suerte de conocer, durante el proceso de selección de estudiantes de doctorado del EMBL, a Attila Becskei, un físico húngaro que estudiaba Medicina. Entró en mi equipo e inició los primeros proyectos relacionados con biología de sistemas y biología sintética. Publicamos nuestro primer artículo en *Nature*

sobre el análisis de un circuito genético muy sencillo, un bucle de retroalimentación negativa. Ese texto y otro del equipo de Leibler fueron los primeros sobre biología de sistemas y también sobre biología sintética. Poco después, y a causa del lamentable fallecimiento de Matti Saraste, coordinador del programa, en 2001 me nombraron a mí para ocupar ese puesto junto a Peer Bork. Así que ya no era solo responsable de mi equipo, sino que también estaba a cargo de un programa compuesto por doce grupos de investigación. Peer y yo condujimos el programa hacia la integración del ordenador con los estructuralistas, desarrollando también la tomografía de electrones en el EMBL de Heidelberg. Nos divertíamos mucho juntos y conseguimos colaborar y tener una misma visión sobre la integración de la biología estructural y la de sistemas. En torno a 2005, al estar llegando a su fin los nueve años de Isabelle como jefa de grupo en el EMBL, tenía que dejar el centro. Barajamos varias posibilidades, pero los dos sabíamos que a ella no le apetecía mucho entrar en una universidad alemana. En esa época, desde Múnich, el Instituto Max Planck se puso en contacto conmigo para pedirme que solicitara el puesto de director en alguno de sus centros. En ese momento la propuesta era muy estimulante porque suponía poner en marcha mi propio instituto de biología de sistemas, desde cero. Me presenté a las entrevistas y tenía una oferta sobre la mesa, pero lamentablemente para Isabelle la única posibilidad era convertirse en jefa de grupo en mi centro. Fue entonces cuando Miguel Beato entró en contacto conmigo, después de una conversación que mantuve con Cayetano González en un supermercado de Heidelberg, y me ofreció la posibilidad de regresar a España, al recién creado Centre de Regulació Genòmica (CRG). También querían crear un programa de biología celular en el que Isabelle podría encajar. Recuerdo que hablé con Iain Mattaj, el nuevo director del EMBL, y me dijo: «Luis, has hecho una labor estupenda en el EMBL. Si te quedas aquí o si te conviertes en director de un centro Max Planck seguirás en la misma línea. Sin embargo, si aceptas la oferta de Miguel tendrás la oportunidad de ayudar a crear, por primera vez, un instituto internacional de primera fila en España». La decisión fue angustiosa, pero al final el reto de hacer algo estimulante en mi propio país fue lo que me convenció para aceptar la oferta de Miguel. En esa época la decisión era arriesgada: el CRG carecía de financiación básica y era un centro que acababa de empezar, pero allí estaban dos antiguos miembros del EMBL, Fátima Gebauer y Juan Valcárcel, que también hicieron por convencernos. Posteriormente, y durante el periodo de transición entre el EMBL y el CRG (2006-2007), rechacé otras dos ofertas de los institutos Max Planck de Dortmund y Marburgo.

En 2007 aterricé en el CRG en calidad de coordinador del programa de Biología de Sistemas. Fue una época apasionante y, como Miguel había conseguido financiación, podíamos ofrecer un paquete combinado de acogida a los nuevos jefes de grupo. Nos anunciábamos fuera, así que estaban comenzando a llegar los primeros jefes de grupo extranjeros. También estábamos poniendo en marcha un programa de doctorado internacional y, entre otras cosas, uno de transferencia tecnológica. Surgían nuevos programas, como el de Biología Celular y de Desarrollo, coordinado por Alfonso Martínez Arias y después, brevemente, por Isabelle Vernos y posteriormente por Vivek Malhotra. El año anterior a nuestro traslado a Barcelona mi equipo comenzó a colaborar con Peer Bork y Anne-Claude Gavin en una de las bacterias más pequeñas que se pueden cultivar en laboratorio, el *Mycoplasma pneumoniae*. El objetivo del proyecto era comprender del todo, y de forma absolutamente cuantitativa, un ser vivo para que pudiera habitar en un ordenador. Era algo realmente ambicioso y, para

realizarlo, necesitábamos un sólido apoyo económico. Fue entonces cuando, un día que yo estaba en mi despacho, se presentó el doctor Pedro García Barreno y me dijo que representaba a la Fundación Botín y que quería ofrecerme una financiación considerable para un periodo de cinco años y que podía utilizar el dinero como quisiera. Era como si el cielo hubiera oído mis plegarias. También, más o menos en esa época, solicité las ayudas para investigaciones avanzadas del recién creado European Research Council (ERC). El proyecto presentado se centraba en la modificación del *Mycoplasma pneumoniae* para convertirlo en una píldora con la que tratar enfermedades humanas. Tuve suerte y obtuve la ayuda. De este modo, con un sólido respaldo económico, pude acometer el proyecto que, aparte de en muchos otros artículos, se ha plasmado en tres textos publicados en el mismo número de *Science*. También comenzamos a colaborar con Sanofi para manipular la bacteria y poder tratar enfermedades humanas, algo que podría obtener resultados muy prometedores. Mientras trabajábamos en ese campo, la mitad del equipo se ocupaba de analizar cuantitativamente la señalización de las células humanas, centrándose en la vía MAPK-ERK, frecuentemente relacionada con el cáncer.

En 2007 me nombraron subdirector del CRG y, en 2011, al retirarse Miguel, solicité y conseguí la dirección del centro. Desde que obtuve la ayuda de la Fundación Botín he prestado atención a sus iniciativas de fomento de la ciencia española y, lo que es más importante, de formación de científicos españoles en transferencia tecnológica. La Fundación ha hecho una excelente labor al contratar a científicos españoles de primera fila, formándolos y apoyándolos en sus iniciativas, las cuales pretenden devolver a la sociedad parte de lo que esta les ha dado. Desde mi puesto de director del CRG, creo que nuestra prioridad es la excelencia científica, pero también debemos destacar en transferencia tecnológica, así como en formación y comunicación con la sociedad. Espero que en los próximos años, y en colaboración con la Fundación Botín, podamos alcanzar estos tres objetivos. Respecto a mi equipo, lo que pretendo es conjugar la dirección de un instituto internacional de excelencia formado por cuatrocientas cincuenta personas con la de mi propio laboratorio. Hasta ahora lo he logrado, gracias a algunos excelentes miembros del grupo y a tener en plantilla a Christina Kiel y Maria Lluch, dos científicas que se ocupan de la gestión diaria. No he abandonado la ciencia y todavía me entusiasma descubrir cosas nuevas con el equipo, tener revelaciones. Pero quizá haya cambiado, en el sentido de que ya no me alegra tanto publicar un artículo en una revista importante, sino que me interesan más las cosas que ayudan a la gente o que tienen un auténtico impacto científico. Respecto al CRG, mi objetivo es tener uno de los mejores institutos del mundo y contribuir al desarrollo de grandes científicos que puedan ir a cualquier parte. Pero no sé si terminaré mi carrera en él. Me gusta hacer cosas nuevas, enfrentarme a nuevos desafíos personales y profesionales. En cierto modo, me gusta la comparación que, en una de sus canciones, establecía Toquinho entre la vida y una acuarela: «Piensa que el futuro es una acuarela y tu vida un lienzo que colorear, que colorear».

Bibliografía

J. A. Wodke, J. Puchalka, M. Lluch-Senar, J. Marcos, E. Yus, M. Godinho, R. Gutiérrez-Gallego, V. A. dos Santos, L. Serrano, E. Klipp y T. Maier, «Dissecting the energy metabolism in Mycoplasma pneumoniae through genome-scale metabolic modeling», en *Mol Sys Biol*, abril de 2013.

E. Yus, M. Güell, A. P. Vivancos, W. H. Chen, M. Lluch-Senar, J. Delgado, A. C. Gavin, P. Bork y L. Serrano, «Transcription start site associated RNAs in bacteria», en *Mol Sys Biol*, mayo de 2012.

T. Maier, A. Schmidt, M. Güell, S. Kuehner, A. C. Gavin, R. Aebersold y L. Serrano, «Quantification of mRNA and protein and integration with protein turnover in a bacterium», en *Mol Sys Biol*, julio de 2011.

M. Güell, E. Yus, M. Lluch-Senar y L. Serrano, «Bacterial transcriptomics: what is beyond the RNA horiz-ome?», en *Nat Rev Microbiol*, septiembre de 2011.

C. Kiel, A. Vogt, A. Campagna, A. Chatr-Aryamontri, M. Swiatek-de Lange, M. Beer, S. Bolz, F. A. Mack, N. Kinkl, G. Cesareni, L. Serrano y M. Ueffing, «Structural and functional protein network analyses predict novel signaling functions for rhodopsin», en *Mol Sys Biol*, noviembre de 2011.

C. Kiel, E. Yus y L. Serrano, «Engineering Signal Transduction Pathways», en *Cell*, 8 de enero de 2010.

C. Kiel y L. Serrano, «Cell Type-Specific Importance of Ras-c-Raf Complex Association Rate Constants for MAPK Signaling», en *Sci Signal*, 28 de julio de 2009.

M. Güell, V. van Noort, E. Yus, W. H. Chen, J. Leigh-Bell, K. Michalodimitrakis, T. Yamada, M. Arumugam, T. Doerks, S. Kuehner, M. Rode, M. Suyama, S. Schmidt, A. C. Gavin, P. Bork y L. Serrano, «Transcriptome Complexity in a Genome-Reduced Bacterium», en *Science*, 27 de noviembre de 2009.

S. Kuehner, V. van Noort, M. J. Betts, A. Leo-Macías, C. Batisse, M. Rode, T. Yamada, T. Maier, S. Bader, P. Beltrán-Álvarez, D. Castaño-Díez, W. H. Chen, D. Devos, M. Güell, T. Norambuena, I. Racke, V. Rybin, A. Schmidt, E. Yus, R. Aebersold, R. Herrmann, B. Boettcher, A. S. Frangakis, R. B. Russell, L. Serrano, P. Bork y A. C. Gavin, «Proteome Organization in a Genome-Reduced Bacterium», en *Science*, 27 de noviembre de 2009.

E. Yus, T. Maier, K. Michalodimitrakis, V. van Noort, T. Yamada, W. H. Chen, J. A. Wodke, M. Güell, S. Martínez, R. Bourgeois, S. Kuehner, E. Raineri, I. Letunic, O. V. Kalinina, M. Rode, R. Herrmann, R. Gutiérrez-Gallego, R. B. Russell, A. C. Gavin, P. Bork y L. Serrano, «Impact of Genome Reduction on Bacterial Metabolism and Its Regulation», en *Science*, 27 de noviembre de 2009.

M. Isalan, C. Lemerle, K. Michalodimitrakis, C. Horn, P. Beltrao, E. Raineri, M. Garriga-Canut y L. Serrano, «Evolvability and hierarchy in rewired bacterial gene networks», en *Nature*, 17 de abril de 2008.

B. di Ventura, C. Lemerle, K. Michalodimitrakis y L. Serrano, «From in vivo to in silico biology and back», en *Nature*, 5 de octubre de 2006.

JUAN VALCÁRCEL

ATANDO CABOS

14

¿Número equivocado?

«¿Está usted seguro de que no se ha equivocado de número?». Esta fue mi primera reacción —afortunadamente contenida— cuando, una mañana de septiembre de 2007, don Pedro García Barreno me llamó por teléfono a la hora de la reunión semanal de mi grupo de investigación para decirme que le gustaría visitar nuestro laboratorio en el Centre de Regulació Genòmica de Barcelona. Había conocido a Pedro unas semanas antes en la Escuela de Biología Molecular organizada en la Universidad Menéndez Pelayo por Margarita Salas y Carlos López Otín en honor a Eladio Viñuela, una de las reuniones científicas más placenteras que conozco, por su estimulante atmósfera de aprendizaje y discusión, la motivación y participación de los alumnos y el extraordinario entorno natural del Palacio de la Magdalena, sede de los cursos en Santander. Y también, por supuesto, por el respeto y afecto hacia Margarita, Eladio y Carlos, tanto por sus contribuciones pioneras para el establecimiento y desarrollo de la Biología Molecular en España como por su ejemplo e influencia en mi carrera.

La charla de Pedro en el curso me pareció clarividente por su sentido común a la hora de diagnosticar las causas del retraso relativo de nuestro país en ciencia y tecnología comparado con otros países de similar estatus económico. Y no solo las causas, sino sus posibles soluciones. De hecho, esa charla me preparó, sin que pudiera sospecharlo, para la conversación que mantuvimos durante su visita a mi laboratorio. Comenzó por explicarme la filosofía del Programa de Transferencia Tecnológica de la Fundación Botín y me ofreció la oportunidad de formar parte de este. Debió de leerme el pensamiento, porque enseguida añadió: «Y no queremos que cambies nada de lo que haces, solo que hables con nosotros una vez al mes para discutir tu ciencia». A mi primera reacción —¡lo que podríamos hacer en el laboratorio con los sustanciosos fondos que me anunció que acompañarían a la incorporación al programa!— siguió una pesadumbre que me fue difícil disimular. Jamás había solicitado una patente, nunca se me había ocurrido montar una empresa y, aunque no se me ocultaban posibles aplicaciones del trabajo del grupo de investigación, estas seguramente las desarrollarían otros más dotados para la tecnología y para los negocios. Mi único objetivo profesional hasta ese momento había sido realizar un trabajo de la mayor calidad científica posible en el ámbito de trabajo que me había absorbido desde mi tesis doctoral, y al que volveré más adelante. Mi percepción era que cualquier distracción de este objetivo terminaría por repercutir en la calidad o impacto —o ambos— del trabajo de mi grupo. «Cada uno debe hacer lo que mejor sabe hacer», había leído de Howard Temin, descubridor de uno de los pilares del desarrollo de la biotecnología, la enzima transcriptasa reversa, que sin embargo nunca mostró interés alguno por explotar los resultados de sus trabajos revolucionarios.

En ese momento pensé que lo honesto sería agradecer profusamente la invitación pero encontrar alguna forma cortés de declinarla. Sin embargo, solo pude hacer lo primero y balbucear un «la verdad es que no tengo experiencia en transferencia tecnológica», que Pedro atajó diciendo que era precisamente un perfil que estaban buscando para su tarea transformadora. Ser parte de un experimento es la mejor manera de convencer a alguien con vocación científica, así que acepté gustoso la propuesta, asumiendo que, en el peor de los casos, serviría como control negativo del experimento.

Esa extraña sintaxis

Crecí en Lugo, la ciudad fundada en el año 25 a. C. por el magistrado romano Paulo Fabio Máximo en honor al emperador Augusto, sobre un previo asentamiento celta. Tuve la suerte de tener unos magníficos profesores y una familia que me enseñaron a disfrutar del aprendizaje sobre el funcionamiento de la naturaleza y también del dibujo, los idiomas y la literatura. Mis mejores recuerdos son de la lectura de libros sobre el ADN, sobre la vida de las estrellas o el comportamiento de las abejas o los chimpancés, y de novelas de Gabriel García Márquez o Günter Grass, en los bosques y ríos que rodean la ciudad de Lugo o en los acantilados de la costa cercana a Ribadeo. Estudié Biología y Química en el Colegio Universitario de Lugo y continué en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular en la Universidad Autónoma de Madrid. Tuve la fortuna de entrar a trabajar, por sugerencia de Juan Fernández Santarén, en el laboratorio de Juan Ortín, en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO). El trabajo del laboratorio se centraba en el estudio de los mecanismos de replicación del virus de la gripe, y Juan me ofreció un proyecto de tesis doctoral cuyo objetivo era identificar las proteínas implicadas en la generación de diversidad genética que hace tan difícil la generación de vacunas eficaces contra esta infección. Trabajar en un tema de esta importancia en un centro como el CBMSO —cuna de tantos grandes científicos españoles y en la vanguardia de la biología molecular en España— era para mí un sueño hecho realidad. A eso se unía la gran calidad humana y profesional de Juan Ortín, que además de un excelente supervisor fue, y sigue siendo, un gran amigo. Pero los primeros experimentos en el laboratorio nos iban a llevar por un sendero bastante distinto.

Pocos años antes, investigadores del Massachusetts Institute of Technology, en Cambridge, y del Cold Spring Harbor Laboratory, en Long Island, habían descubierto que uno de los principios fundamentales de la biología molecular, la colinealidad gen-proteína, tenía excepciones en ciertos virus animales. Este principio establece que la secuencia de nucleótidos (A, T, G, C) del ADN, que constituye el legado genético de las especies y de los organismos presente en cada una de nuestras células, determina la secuencia de aminoácidos que configura la estructura y las funciones de las proteínas. Estas son las moléculas que construyen nuestros organismos, coordinan nuestro metabolismo y también permiten la replicación de nuestro material genético y la reproducción. El trabajo monumental de muchos grupos, incluido el de Severo Ochoa en Nueva York, sirvió para descifrar el código genético por el cual combinaciones de tres nucleótidos especifican los veintiún aminoácidos que componen las proteínas. Pero los nuevos descubrimientos en virus indicaban que a veces el texto genético está interrumpido por letras sin sentido. Tomando como ejemplo

la famosa frase inicial de *Cien años de soledad*: «Muchos años más tarde, frente al pelotón de fusilamiento, el coronel Aureliano Buendía había de recordar aquella tarde remota en que su padre le llevó a conocer el hielo», en nuestro genoma esta pieza de información estaría escrita de forma muy extraña. Algo así: «Muchosañossggdteuiflglgoghppjpjpjpjppkdmjhfdjsmástarde,tyjllasjchdbvmkjeghrhktkerkjgkerfrentealpelotónckgefhfnergjkjrkkyjlykluklrkmdhqñfñldefusilamientofabjlavdtiuuhsbcg...». Realmente, una sintaxis inusual que rompía la universalidad del principio enunciado por François Jacob: «Lo que es cierto para la bacteria intestinal *Escherichia coli* es cierto para el elefante», evidenciando una diferencia fundamental entre los mecanismos de expresión génica de organismos procariotas (cuyos mensajes genéticos son continuos) y eucariotas (con núcleo en sus células, cuyos mensajes genéticos son, en su mayoría, discontinuos).

En poco tiempo se llegó a la conclusión de que esta inesperada organización de los mensajes genéticos no era una rareza de ciertos virus, sino que la inmensa mayoría de los genes en los organismos pluricelulares están escritos utilizando esta extraña sintaxis. Más aún, en el momento en que comenzaba mi tesis era cada vez más evidente que los organismos utilizan esta sintaxis rota para ampliar el número de mensajes genéticos generados a partir de una misma región del ADN. Eliminando algunas partes con sentido, o combinándolas entre sí de diversas maneras, es posible generar frases en las que el coronel Aureliano Buendía no había de recordar aquella remota tarde, o en las que no fue su padre, sino su madre, la que le llevó a conocer el hielo, o que no era el hielo sino el fuego lo que el coronel conoció. Las posibilidades que se abrían con esta sorprendente organización de los genes me parecieron fascinantes. Imaginaba la célula como el lector de una novela en la que podría, no ya leer los capítulos en orden distinto —como ensayó Cortázar para hacer participar a sus lectores en el proceso creativo—, sino generar, a partir de cada frase, distintos significados. Y así con todas las frases desde el principio al fin de la novela. ¡Inmensas posibilidades combinatorias para infinidad de novelas, relacionadas entre sí pero distintas! Hoy sabemos que al menos el 90% de los genes humanos utiliza esta combinatoria para multiplicar el contenido informativo de sus genes, y que existen algunos (por ejemplo, el gen Dscam en *Drosophila*) capaces de generar varias decenas de miles de mensajes distintos, una cantidad mayor que el número total de genes en ese organismo.[1] Usando la metáfora de *El libro de arena* de Borges, nuestro genoma se parece a un libro que contiene otro libro en cada página.[2]

De la gripe al cáncer (pasando por la mosca de la fruta)

Además del proyecto sobre la variabilidad del virus de la gripe, Juan Ortín me propuso hacer algunos experimentos para estudiar la expresión del séptimo gen (el virus solo tiene ocho genes), que puede producir dos tipos de ARN mensajeros y proteínas según se elimine o no una región del ARN precursor. A medida que profundizamos en este fenómeno me sentí fascinado por la maquinaria que la célula utiliza para eliminar determinadas regiones del ARN, la cual corta la molécula con precisión de cirujano y ata los cabos sueltos para generar frases que se pueden leer de forma continua. En nuestro ejemplo literario, la maquinaria celular partiría del texto «Muchos añossggdteuiflglgoghppjpjpjppkdmjhfdjsmás tarde...», cortaría y eliminaría los textos sin sentido (llamados, en términos técnicos, intrones) y uniría «Muchosaños» con «mástarde» (estas piezas individuales se conocen como

exones) para generar el contenido legible del ARN mensajero «Muchosañosmástarde...». A lo largo de mi tesis observamos que la eficiencia con la que ocurre este proceso en el gen 7 aumenta durante la infección viral[3] y que se altera en ausencia de otros productos virales.[4] Esto implica que la actividad de la maquinaria de corte y empalme puede modularse dentro de la misma célula como consecuencia de los cambios inducidos por la progresión del ciclo viral. Esta plasticidad, observada también en otros virus, sugería la existencia de mecanismos celulares dinámicos mediante los que se puede modular el proceso. Si se llegasen a conocer estos mecanismos, uno podría soñar con influir sobre ellos para controlar la expresión génica, para elegir qué versión de la novela queremos leer. En ese momento decidí dedicar toda mi atención al estudio de la maquinaria de corte y empalme (en inglés *splicing*, término usado en el lenguaje marinero para unir dos cabos de cuerda). Mi fascinación por esta maquinaria, sus efectos y su regulación no ha dejado de crecer desde entonces y, a partir de lo que sigue, dudo que deje de hacerlo en el futuro. Juan Ortín fue muy generoso al permitir que mi trabajo se desviase del interés general del laboratorio para seguir esta línea de investigación, algo por lo que siempre le estaré agradecido.

Un privilegio de la carrera científica es la posibilidad de explorar, una vez concluida la tesis doctoral, nuevas áreas de investigación, generalmente asociado a vivir durante un tiempo en otros lugares del mundo. Para entender la regulación del *splicing*, el sistema biológico en el que los factores reguladores del proceso estaban mejor definidos era la mosca de la fruta, *Drosophila melanogaster*. Datos genéticos apuntaban a que la proteína Sex-lethal, expresada exclusivamente en las hembras, coordina el proceso de determinación sexual mediante el control del *splicing* de varios genes diana. Tuve la fortuna de que Michael R. Green, uno de los mayores expertos mundiales en el proceso de *splicing*, me aceptase para trabajar en su laboratorio en la Universidad de Massachusetts, a lo que contribuyó decisivamente la concesión de una beca posdoctoral de la European Molecular Biology Organization (EMBO). Aunque el laboratorio no trabajaba en *Drosophila*, nos lanzamos a investigar cómo Sex-lethal regula el *splicing* y encontramos que en algunos genes diana lo hace uniéndose al ARN y evitando que ciertas secuencias intrónicas puedan ser reconocidas por la maquinaria de corte y empalme.[5] Este mecanismo nos permitió también entender cómo una proteína implicada en el reconocimiento del extremo 3' del intrón (U2AF) lleva a cabo su función, al demostrar que la fusión de una región rica en aminoácidos arginina y serina de esta proteína es suficiente para que Sex-lethal pase de ser un represor a ser un activador del proceso de *splicing*.[4,6] Una vez más emergía la idea de modular el proceso de *splicing* de forma predecible y relativamente simple. Los años en Massachusetts fueron enormemente estimulantes tanto para mí como para mi mujer, Fátima Gebauer, que hacía su posdoctorado con Joel Richter, tanto por el estímulo intelectual de trabajar junto a auténticos pioneros como por aprender del dinamismo, ambición y rigor del sistema de ciencia y tecnología de Estados Unidos. Personalmente, ambos disfrutamos del ambiente multicultural, de nuestra pequeña casa junto al lago Quinsigamond y de la espléndida naturaleza de Norteamérica.

En 1996 tuve la enorme fortuna de poder establecer mi grupo de investigación en el European Molecular Biology Laboratory (EMBL), en Heidelberg, a lo que contribuyeron el apoyo incondicional de Juan Ortín y Michael Green, y la política de incorporación de personal científico de países del sur de Europa del nuevo director, Fotis Kafatos. Los años que siguieron

me permitieron enlazar la investigación de los mecanismos de regulación del *splicing* con el control de la división celular y la muerte celular programada, ambos aspectos de importancia crucial para el establecimiento y progresión de tumores.

Del Odenwald al Mediterráneo

Situado a las afueras de Heidelberg, en los bosques del margen del parque natural Odenwald, el EMBL es un centro de investigación único. La mayoría de los grupos están dirigidos por jóvenes científicos afanados en el establecimiento de nuevas líneas de investigación, con una estancia máxima en el centro de nueve años, lo que supone un recambio continuo de su personal y un flujo constante de nuevas ideas. Junto con su tradición en el desarrollo de nuevas tecnologías, colaboraciones interdisciplinarias y su vocación de educación de jóvenes a todos los niveles de la carrera científica, el EMBL ha desempeñado un papel crucial en el desarrollo de la biología molecular en Europa.

Junto a un pequeño grupo de colaboradores de gran vocación y talento, continuamos estudiando los mecanismos mediante los que Sex-lethal regula otras dianas en el proceso de determinación sexual en *Drosophila*. Lo que yo anticipaba que sería un proyecto inicial de corto alcance para poner a punto las técnicas en el laboratorio, se convirtió en un proyecto de seis años en el que el estudio de estos mecanismos reveló información relevante sobre las bases moleculares de la identificación de las secuencias intrónicas y de la regulación de su utilización en diversas etapas del proceso de corte y empalme.[7-14] Estos resultados revelaron una gran plasticidad en la maquinaria de *splicing* y, asociado a ella, una variedad de mecanismos de regulación: se consolidaba la idea de que la maquinaria para leer el genoma es maleable y, eventualmente, controlable.

Estos estudios tuvieron el valor añadido de que algunos de los factores reguladores que identificamos eran proteínas implicadas previamente en otros procesos celulares, lo que nos llevó a plantearnos si estas funciones podrían explicarse a partir de sus actividades como reguladores de *splicing*. Por ejemplo, encontramos que las funciones de las proteínas TIA-1 y RBM5 en la regulación del proceso de muerte celular programada (también conocido como apoptosis) estaban relacionadas con las actividades de estos factores en el control del *splicing* alternativo del gen Fas, que codifica un receptor clave en la recepción de señales de suicidio celular.[15-17] En este caso, el *splicing* alternativo genera dos variantes del receptor, una de ellas integrada en la membrana celular y otra secretada fuera de la célula, con funciones opuestas: mientras que la primera promueve la apoptosis, la segunda la inhibe, demostrando la importancia del control del *splicing* alternativo en la lectura de los genes. El conjunto de estos resultados, junto con muchas otras publicaciones de otros grupos, cimentó la idea de que el control del *splicing* puede tener una función clave en muchos aspectos de la progresión tumoral.[18] A la fascinación por la sintaxis rota de los mensajes genómicos y por la maquinaria de procesamiento del ARN, se unió la perspectiva de su relevancia en enfermedades humanas, incluido el cáncer.

Los años en Heidelberg fueron una experiencia excelente tanto profesional como personalmente, por el ambiente internacional del EMBL, las oportunidades culturales del corazón

de Europa y especialmente por el nacimiento de nuestra hija Flora, que creció entre los hayedos del Odenwald y el *Kindergarten* del EMBL, una guardería ejemplar para cualquier centro de investigación.

En el año 2002, Fátima y yo aceptamos ofertas de Miguel Beato para incorporarnos al recién creado Centre de Regulació Genòmica (CRG) de Barcelona. Fue una decisión difícil porque ambos teníamos ofertas muy competitivas de otros centros en Europa y Estados Unidos, mientras que el CRG era en ese momento una gran incógnita. Pero la idea de participar en la creación de un nuevo centro con vocación de alcanzar excelencia internacional, inspirado en el EMBL, junto al optimismo y peso científico de Miguel Beato y el apoyo decidido del conseller Andreu Mas-Colell, nos convencieron de que las perspectivas futuras del reto compensaban el riesgo. En los últimos doce años, el CRG se ha consolidado como un centro de investigación competitivo e internacional, con el 75% de su personal científico procedente de otros países. La ubicación del instituto frente al mar de Barcelona, junto con la inversión en tecnología punta y la atmósfera de abierta colaboración y discusión, también ayudaron a atraer a excelentes científicos jóvenes capaces de poner su sello de talento, calidad científica e innovación a nivel mundial. Como en el caso del EMBL, la mayoría de los jefes de grupo tienen contratos limitados en el tiempo, lo que permite la renovación de ideas, de campos de estudio y nuevas oportunidades de colaboración. Las primeras generaciones de *alumni* han conseguido posiciones como científicos sénior en prestigiosos centros de investigación, testimonio del talento de estos investigadores y del acierto del CRG al reclutarlos y proporcionarles un entorno adecuado para convertirse en líderes internacionales en sus campos de investigación.

El centro obtiene recursos externos que doblan la inversión institucional, y tenemos confianza en que en un futuro próximo la riqueza que genera en términos de transferencia tecnológica contribuya sustancialmente al funcionamiento y expansión científica del centro, tal como lo han hecho en otros países de nuestro entorno otros centros de investigación de similar tamaño y calibre científico. A ello contribuirá, sin duda, la labor que desde hace siete años lleva realizando en nuestro centro la Fundación Botín, a través del apoyo que ha prestado a los grupos de Luis Serrano, actual director del CRG, y al mío. La labor minuciosa, altamente profesional y exquisitamente respetuosa con la libertad de los investigadores que llevan a cabo los gestores de la Fundación acaba impregnando el modus operandi de los centros en materia de transferencia tecnológica. En nuestro caso, a ello ha contribuido de forma muy directa que Pablo Cironi, uno de los gestores de la Fundación, haya pasado a dirigir el Departamento de Transferencia Tecnológica del CRG.

Tres transformaciones en Barcelona

El trabajo del grupo en Barcelona ha experimentado profundas transformaciones a tres niveles. En primer lugar, avances tecnológicos y conceptuales permiten estudiar el proceso del *splicing* y su regulación tanto en el ámbito de los detalles mecanísticos como en el de los programas globales que coordinan su funcionamiento en las células. Es así posible describir la dinámica de centenares de proteínas implicadas en eliminar

cada intrón y a la vez estudiar los efectos de estos factores, sobre todo el genoma. Estas tecnologías y métodos de estudio permiten condensar, en un solo experimento, análisis que a través de procedimientos clásicos hubiesen requerido décadas de trabajo de muchos investigadores. El análisis bioinformático de los datos y el modelado computacional del sistema se han convertido en herramientas imprescindibles que marcan la diferencia de calidad en los resultados y publicaciones. Se ha producido, de hecho, un salto cualitativo en la capacidad de análisis de los sistemas biológicos que provocará, sin duda, una auténtica revolución en la biomedicina. Por poner un ejemplo, en una década hemos pasado de secuenciar un genoma humano en diez años con un coste de 3.000 millones de dólares a hacerlo en una tarde por un coste un millón de veces menor. Paradójicamente, esta explosión en la capacidad de análisis coincide en los últimos años con una contracción de los recursos públicos destinados a la investigación biomédica, tanto a nivel global como, particularmente, en España. Ciertamente, este hecho no halaga la visión de futuro de los centros de decisión económicos y de política científica, y pone en especial valor los esfuerzos de la Generalitat de Catalunya por blindar la financiación de centros de excelencia a pesar de los fuertes efectos de la crisis económica y financiera.

Esta transición tecnológica ha sido posible en mi grupo gracias a la incorporación de jóvenes de gran talento, capaces de establecer un diálogo fluido entre la experimentación con tecnologías a gran escala y los conceptos y herramientas de la biología de sistemas. Para ello ha sido también fundamental establecer colaboraciones estratégicas, tanto del CRG con grupos como los de Roderic Guigó o Ben Lehner, como con consorcios internacionales financiados por la Unión Europea o la Human Frontiers Science Program Organization (HFSPO). De particular relevancia ha sido el European Alternative Splicing Network of Excellence (EURASNET), un consorcio de cuarenta y dos laboratorios europeos en cuyo establecimiento y desarrollo nuestro grupo desempeñó un papel importante junto a su coordinador, Reinhard Lührmann, del Instituto Max Planck de Bioquímica Física de Gotinga, que es además uno de mis más apreciados colegas.

Una segunda y profunda transformación que experimentó el trabajo del grupo ha sido el acercamiento a problemas biomédicos. A ello han contribuido el entorno científico y médico del Parque de Investigación Biomédica de Barcelona (PRBB), en cuyo campus se encuentra el CRG, y la integración de grupos de investigación molecular y clínica dentro del consorcio RNAREG, que he tenido el privilegio de coordinar, financiado por el programa Consolider-Ingenio. El diálogo y colaboración entre los grupos, las publicaciones conjuntas, los desarrollos tecnológicos y sus aplicaciones demuestran el valor añadido de este tipo de programas, que lamentablemente el Ministerio de Economía y Competitividad ha decidido interrumpir.

La tercera transformación del grupo ha sido catalizada por la colaboración con la Fundación Botín. La labor persistente y elocuente de sus gestores a lo largo de los años, Pepa Limeres, Pablo Cironi y Daniela Piazzolla, ha hecho que los miembros del grupo sean conscientes de las oportunidades que abren nuestras investigaciones para encontrar aplicaciones con proyección industrial. Sin desviarnos un ápice de nuestro objetivo central de entender la lógica molecular de la maquinaria de *splicing*, el grupo ha conseguido una dinámica positiva en torno a la innovación, que va desde la atención al detalle en los registros de resultados

hasta la discusión abierta y continua acerca de posibles aplicaciones, el establecimiento de líneas de trabajo con objetivos eminentemente prácticos o el registro de nuestra primera solicitud de patente.

Escogiendo entre versiones del genoma

Nuestros estudios sobre el *splicing* alternativo del gen Fas, que, como he mencionado anteriormente, produce ARN mensajeros que promueven o inhiben el suicidio celular, nos han permitido identificar una variedad de mecanismos y factores reguladores.[17-20] Incluso darnos cuenta de que el espliceosoma, el complejo molecular que lleva a cabo el proceso de eliminación de intrones, no es solo una de las maquinarias más complejas de nuestras células, sino también extraordinariamente dinámica y flexible, permitiendo su regulación esencialmente en todos los pasos de su ensamblaje y función molecular.[20,21]

Uno de los factores reguladores, la proteína PTB, promueve la eliminación del exón alternativo de Fas. Al diseccionar las partes de la proteína responsables de este efecto, conseguimos identificar una pequeña secuencia de aminoácidos (un péptido) capaz de promover la eliminación del exón cuando se fusiona con un pequeño ácido nucleico (oligonucleótido) complementario a las secuencias del exón. Este trabajo, que llevamos a cabo en colaboración con el grupo de Enrique Pedroso, de la Universidad de Barcelona, inmediatamente sugirió la posibilidad de utilizar este tipo de reactivos para inducir la eliminación de cualquier exón, simplemente fusionando el péptido a un oligonucleótido complementario. Esto abriría un enorme abanico de posibilidades para modular el *splicing* de cualquier gen de interés biomédico y biotecnológico, produciendo así lecturas del genoma a voluntad. Aunque aún no hemos encontrado la forma de generalizar esta aplicación a cualquier gen, nuestro grupo ha aprendido mucho con este proyecto sobre los requerimientos —y dificultades— para conseguir aplicaciones a partir de observaciones básicas sin utilidad práctica aparente.

Nuestros desarrollos de tecnologías de alto rendimiento para detectar perfiles de *splicing* alternativo posibilitaron su aplicación a muestras biológicas procedentes de tumores.[22-25] También nos permitieron identificar, de manera sistemática, los genes diana de reguladores de *splicing* cuyas alteraciones influyen en la progresión tumoral, como la proteína del sarcoma de Ewing y los supresores tumorales WT1, SPF45, RBM5 y RBM10.[26-29] Una conclusión general de estos estudios ha sido que los procesos de transformación y progresión tumorales están profundamente influidos por la expresión de diferentes formas de *splicing*. En algunos casos pudimos incluso comprobar que los efectos sobre la proliferación celular de alternaciones en reguladores de *splicing* se pueden bloquear revirtiendo los patrones de *splicing* de determinados genes. Por ejemplo, la mayor proliferación celular asociada a mutaciones en la proteína RBM10, muy frecuentes en cánceres de pulmón, se puede inhibir revirtiendo el patrón de *splicing* de uno de sus genes diana. Este gen diana codifica para la proteína NUMB[29] un importante regulador de la ruta de señalización de Notch, una ruta cuya inhibición tiene efectos terapéuticos en modelos de ratón de adenocarcinomas de pulmón, como ha demostrado el grupo de Manuel Serrano, del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO). Estos resultados revelan el potencial valor terapéutico de la modulación del *splicing* alternativo.

Las conexiones entre el proceso de *splicing* y el cáncer han adquirido una dimensión adicional con la identificación de productos de fermentación bacteriana que poseen propiedades antitumorales y que actúan sobre componentes de la maquinaria de *splicing*.[18] Varios de estos compuestos se unen a la proteína SF3B1, que es un componente considerado esencial para el proceso de *splicing* de intrones en general. Añadiendo aún más interés a esta conexión, el grupo de Carlos López Otín, de la Universidad de Oviedo, descubrió que SF3B1 es uno de los genes mutados con mayor frecuencia en pacientes con leucemia linfocítica crónica. ¿Cómo pueden compuestos que actúan sobre moléculas esenciales para el proceso de *splicing* tener efectos antitumorales sin resultar tóxicos para las células normales? Nuestro grupo encontró que, a pesar de actuar sobre un componente general, cuando se utilizan en concentraciones que inhiben la proliferación celular, estos compuestos modulan el *splicing* alternativo de genes implicados en el control de la división celular.[30] El mecanismo por el que estos compuestos actúan tiene que ver con procesos de edición (*proofreading*) molecular que facilitan el reconocimiento preciso y la verificación de las secuencias de *splicing*, un área de gran interés para mi grupo.[31-33] Nuestro grupo investiga activamente los mecanismos detallados de acción de estos compuestos y ha desarrollado métodos de alto rendimiento para identificar las dianas moleculares de este tipo de fármacos.[20,21]

Perspectivas de ventanas terapéuticas

¿Es realista pensar que la modulación de un proceso tan básico para la expresión génica como es el *splicing* pueda llegar a ofrecer oportunidades terapéuticas? En otras palabras, ¿es concebible diseñar procedimientos suficientemente específicos como para afectar solo a determinados eventos moleculares en genes concretos, sin alterar sustancialmente el procesamiento de multitud de otros ARN, con las previsibles consecuencias negativas que tendría para la célula? Dos vías principales aparecen en el horizonte.

La primera es la utilización de oligonucleótidos modificados capaces de impedir el reconocimiento de secuencias en los precursores de ARN mensajeros por parte de la maquinaria de *splicing* o de complejos reguladores. Terapias basadas en la utilización de ácidos nucleicos complementarios al ARNm que se desea inhibir (terapias *antisense*) crearon furor entre inversores y la industria biotecnológica a lo largo de los años ochenta y noventa, pero los resultados no cumplieron estas expectativas. Una posible razón para ello reside en el mecanismo de acción de los *antisense* clásicos, que buscaban bloquear la traducción de los ARN mensajeros en proteínas. Este proceso lo lleva a cabo la compleja maquinaria del ribosoma, que contiene numerosas actividades enzimáticas diseñadas para eliminar precisamente esta clase de estructuras de doble cadena que tienden a formarse de forma natural entre distintas regiones de los ARN mensajeros. En el caso de la modulación del *splicing*, sin embargo, estos oligonucleótidos parecen ser más eficaces, probablemente porque, en lugar de luchar frontalmente contra la maquinaria de *splicing*, «desvían» su función hacia una secuencia de procesamiento alternativa. Este tipo de moléculas se ha utilizado con gran éxito para corregir, en modelos animales, defectos genéticos asociados con la atrofia muscular espinal, una de las enfermedades genéticas más prevalentes. Mediante la introducción de modificaciones químicas estabilizantes, se han conseguido oligonucleótidos con unas notables actividad y vida

media en tejidos, incluso semanas después de su inyección intravenosa. Compuestos pioneros de este tipo se encuentran en fases avanzadas de ensayos clínicos.

El segundo método se basa en la identificación de pequeñas moléculas que modulan el reconocimiento de secuencias alternativas de *splicing*. Ya hemos discutido los efectos antitumorales que productos de fermentación de microorganismos tienen sobre la proteína SF3B1 y sus consecuencias sobre la expresión de genes reguladores de la división celular. Otro ejemplo reciente es la identificación de compuestos capaces de modular el *splicing* alternativo del gen SMN2 para corregir defectos genéticos causantes de la atrofia muscular espinal. Aunque se desconoce su mecanismo de acción, estos compuestos abren la posibilidad de generar «balas mágicas» terapéuticas, basadas en la alteración específica del proceso de *splicing* en genes relevantes para un proceso patológico.[34]

Cualquiera de estas estrategias, o la combinación inteligente de ambas, puede ofrecer métodos realistas para la modulación específica del proceso de *splicing* y, de esta manera, contribuir a establecer nuevas terapias y vías para explorar la función génica. Para conseguir aprovechar estas ventanas terapéuticas, será crucial seguir profundizando en los mecanismos del proceso de *splicing* y de su regulación, aprovechando las oportunidades que ofrecen las tecnologías de alto rendimiento, las aproximaciones y conceptos de la biología de sistemas y la comprensión detallada de las interacciones moleculares sobre las que se asienta la función del espliceosoma, nuestro lector de los mensajes del genoma. En esta dirección, nuestro grupo ha desarrollado una combinación de métodos computacionales y experimentales que permite establecer el *network* de interacciones funcionales del espliceosoma y utilizar estas herramientas para identificar mecanismos moleculares de regulación, incluyendo las dianas de fármacos y compuestos que modulan el *splicing* alternativo.[20,21]

Cuando era un estudiante de doctorado, tuve el privilegio de escuchar una conferencia de Arthur Kornberg con motivo de la conmemoración del décimo aniversario del Centro de Biología Molecular. Kornberg, que junto con Severo Ochoa recibió el Premio Nobel en 1959 por la síntesis enzimática de ácidos nucleicos, finalizó su charla diciendo que aquel era un gran momento para hacer ciencia y, en particular, para estudiar los procesos biológicos. Creo que Arthur Kornberg estaría de acuerdo en que hoy las oportunidades que se abren para entender a los seres vivos y las alteraciones asociadas a sus patologías son incluso mayores de lo que se podía llegar a imaginar en aquellas fechas. Ojalá podamos, entre todos, seguir atando cabos para conseguirlo.

Agradecimientos

Quiero agradecer muy sinceramente a la Fundación Botín, y en especial a Pedro García Barreno y a Francisco Moreno, su apoyo y confianza a lo largo de los últimos siete años. Y, por supuesto, a Pepa Limeres, a Pablo Cironi y a Daniela Piazzolla su excelente labor como gestores de la Fundación para los proyectos de mi grupo. Me gustaría también aprovechar esta ocasión para reiterar mi gratitud a Juan Ortín, Michael Green, Fotis Kafatos, Iain Mattaj, Miguel Beato, Reinhard Lührmann y Fátima Gebauer por su ayuda incondicional a lo largo de mi carrera. Y, desde luego, a los miembros de mi equipo de investigación y el resto de mis colegas tanto en el EMBL como en el CRG, que han hecho posibles las contribuciones que hemos podido realizar en mi laboratorio. Finalmente, quiero agradecer también su contribución a entidades nacionales e internacionales con fondos para el trabajo del grupo: Fundación Botín, Ministerio de Economía y Competitividad, Generalitat de Catalunya, Fundación Alicia Koplowitz, V y VI Programas Marco de la Unión Europea, EMBO, Human Frontiers Science Program, Association for International Cancer Research, Bundesministerium für Bildung und Forschung (Alemania) y Muscular Dystrophy Association (Estados Unidos).

Bibliografía

1. M. P. Paronetto, I. Bernardis, E. Volpe, E. Bechara, E. Sebestyén, E. Eyras y J. Valcárcel, «Regulation of FAS exon definition and apoptosis by the Ewing's sarcoma protein», en *Cell Rep*, vol. 7, 2014, pp. 1211-1226.

2. L. M. Mendes-Soares y J. Valcárcel, «The expanding transcriptome: the genome as the "Book of Sand"», en *EMBO J*, vol. 25, 2006, pp. 923-931.

3. J. Valcárcel, A. Portela y J. Ortín, «Regulated M1 mRNA splicing during influenza virus infection», en *J Gen Virol*, vol. 72, 1991, pp. 1301-1308.

4. J. Valcárcel, P. Fortes y J. Ortín, «Splicing of influenza virus matrix protein mRNA expressed from a simian virus 40 recombinant», en *J Gen Virol*, vol. 74, 1993, pp. 1317-1326.

5. J. Valcárcel, R. Singh, P. D. Zamore y M. R. Green, «The protein Sex-lethal antagonizes the splicing factor U2AF to regulate alternative splicing of *transformer* pre-mRNA», en *Nature*, vol. 362, 1993, pp. 171-175.

6. J. Valcárcel, R. K. Gaur, R. Singh y M. R. Green, «Interaction of U2AF65 RS region with pre-mRNA branch point and promotion of base pairing with U2 snRNA», en *Science*, vol. 273, 1996, pp. 1706-1709.

7. F. Gebauer, L. Merendino, M. H. Hentze y J. Valcárcel, «The *Drosophila* splicing regulator Sex-lethal directly inhibits translation of *male-specific-lethal 2* mRNA», en *RNA*, vol. 4, 1998, pp. 142-150.

8. B. Granadino, L. O. Penalva, M. R. Green, J. Valcárcel y L. Sánchez, «Distinct mechanisms of splicing regulation *in vivo* by the *Drosophila* protein Sex-lethal», en *PNAS*, vol. 94, 1997, pp. 7343-7348.

9. L. Merendino, S. Guth, D. Bilbao, C. Martínez y J. Valcárcel, «Inhibition of *msl-2* splicing by Sex-lethal reveals interaction between U2AF35 and the 3' splice site AG», en *Nature*, vol. 402, 1999, pp. 838-841.

10. S. Guth, C. Martínez, R. K. Gaur y J. Valcárcel, «Evidence for substrate-specific requirement of the splicing factor U2AF35 and for its function after polypyrimidine tract recognition by U2AF65», en *Mol Cell Biol,* vol. 19, 1999, pp. 8263-8271.

11. S. Guth y J. Valcárcel, «Kinetic role of mammalian SF1/BBP in spliceosome assembly and function after polypyrimidine-tract binding by U2AF65», en *J Biol Chem*, vol. 275, 2000, pp. 38059-38066.

12. S. Guth, T. O. Tange, E. Kellenberger y J. Valcárcel, «Dual function for U2AF35 in AG-dependent pre-mRNA splicing», en *Mol Cell Biol*, vol. 21, 2001, pp. 7673-7681.

13. L. O. F. Penalva, M. J. Lallena y J. Valcárcel, «Switch in 3' splice site recognition during exon definition and catalysis is important for *Sex-lethal* autoregulation», en *Mol Cell Biol*, vol. 21, 2001, pp. 1986-1996.

14. M. J. Lallena, K. Chalmers, S. Llamazares, A. I. Lamond y J. Valcárcel, «Splicing regulation at the second catalytic step by Sex-lethal involves 3' splice site recognition by SPF45», en *Cell*, vol. 109, 2002, pp. 285-296.

15. P. Förch, O. Puig, N. Kedersha, C. Martínez, B. Séraphin, P. Anderson y J. Valcárcel, «The apoptosis-promoting factor TIA-1 is a regulator of alternative pre-mRNA splicing», en *Mol Cell Biol*, vol. 6, 2000, pp. 1089-1098.

16. P. Förch, O. Puig, C. Martínez, B. Séraphin y J. Valcárcel, «The splicing regulator TIA-1 interacts with U1-C to promote U1 snRNP recruitment to 5' splice sites», en *EMBO J*, vol. 21, 2002, pp. 6882-6892.

17. S. Bonnal, C. Martínez, P. Förch, A. Bachi, M. Wilm y J. Valcárcel, «RBM5 / Luca-15 / H37 regulates Fas alternative splice site pairing after exon definition», en *Mol Cell*, vol. 32, 2008, pp. 81-95.

18. S. Bonnal, L. Vigevani y J. Valcárcel, «The splicesosome as a target of antitumour drugs», en *Nat Rev Drug Discov*, vol. 11, 2012, pp. 847-859.

19. J. M. Izquierdo, N. Majos, S. Bonnal, C. Martínez, R. Castelo, R. Guigó, D. Bilbao y J. Valcárcel, «Regulation of Fas alternative splicing by antagonistic effects of TIA-1 and PTB on exon definition», en *Mol Cell*, vol. 19, 2005, pp. 475-484.

20. J. R. Tejedor, P. Papasaikas y J. Valcárcel, «Genome-wide identification of FAS/CD95 alternative splicing regulators reveals links with iron homeostasis», en *Mol Cell*, 2015, en prensa.

21. P. Papasaikas, J. R. Tejedor, L. Vigevani y J. Valcárcel, «Functional splicing network reveals extensive regulatory potential of the core Spliceosomal machinery», en *Mol Cell*, 2015, en prensa.

22. A. Relògio, C. Schwager, A. Richter, W. Ansorge y J. Valcárcel, «Optimization of oligonucleotide DNA microarrays», en *Nucleic Acids Res*, vol. 30, 2002, E51-1.

23. A. Relògio, C. Ben-Dov, M. Baum, M. Ruggiu, V. Benes, R. L. Darnell y J. Valcárcel, «Splicing microarrays reveal functional expression of neuron-specific splicing regulators in Hodgkin lymphoma cells», en *J Biol Chem*, vol. 280, 2005, pp. 4779-4784.

24. B. Hartmann, R. Castelo, B. Miñana, E. Peden, M. Blanchette, D. C. Rio, R. Singh y J. Valcárcel, «Distinct programs establish widespread sex-specific alternative splicing in Drosophila melanogaster», en *RNA*, vol. 17, 2011, pp. 453-468.

25. F. A. Bava, C. Eliscovich, P. G. Ferreira, B. Miñana, C. Ben-Dov, R. Guigó, J. Valcárcel y R. Méndez, «CPEB1 coordinates alternative 3' UTR formation with translational regulation», en *Nature*, vol. 495, 2013, pp. 121-125.

26. A. Ortega, M. Niksic, A. Bachi, M. Wilm, L. Sánchez, N. Hastie y J. Valcárcel, «Biochemical function of Female-Lethal(2)D / Wilms' Tumor Suppressor-1 Associated proteins in alternative pre-mRNA splicing», en *J Biol Chem*, vol. 278, 2003, pp. 3040-3047.

27. L. Corsini, S. Bonnal, J. Basquin, M. Hothorn, J. Valcárcel y M. Sattler, «U2AF Homology Motif-mediated interactions are required for alternative splicing regulation by SPF45», en *Nat Struct Mol Biol*, vol. 14, 2007, pp. 620-629.

28. M. P. Paronetto, B. Miñana y J. Valcárcel, «The Ewing Sarcoma protein (EWS) regulates DNA damage-induced alternative splicing, en *Mol Cell*, vol. 43, 2011, pp. 353-368.

29. E. Bechara, E. Sebestyén, I. Bernardis, E. Eyras y J. Valcárcel, «RBM5, RBM6 and RBM10 differentially regulate NUMB alternative splicing to control cancer cell proliferation», en *Mol Cell*, vol. 52, 2013, pp. 720-733.

30. A. Corrionero, B. Miñana y J. Valcárcel, «Reduced fidelity of branch point recognition and alternative splicing induced by the anti-tumor drug Spliceostatin A», en *Genes Dev*, vol. 25, 2011, pp. 445-459.

31. L. M. Mendes-Soares, K. Zanier, C. Mackereth, M. Sattler y J. Valcárcel, «Intron removal requires proofreading of U2AF / 3' splice site recognition by DEK», en *Science*, vol. 312, 2006, pp. 1961-1965.

32. C. D. Mackereth, B. Simon, T. Madl, S. Bonnal, K. Zanier, A. Gasch, V. Rybin, J. Valcárcel y M. Sattler, «Multidomain conformational selection underlies pre-mRNA splicing regulation by U2AF», en *Nature*, vol. 475, 2011, pp. 408-411.

33. J. P. Tavánez, T. Madl, H, Kooshapur, M. Sattler y J. Valcárcel, «hnRNP A1 proofreads 3' splice site recognition by U2AF», en *Mol Cell*, vol. 45, 2012, pp. 314-329.

34. L. Vigevani y J. Valcárcel, «A splicing magic bullet», en *Science*, vol. 345, 2014, pp. 624-625.

MODESTO OROZCO

LA IMPERCEPTIBLE CERTEZA DE LA DUDA

15

Siempre me han fascinado las paradojas. Una de las más inquietantes la planteó en 1936 el físico austriaco Erwin Schrödinger. Esa paradoja nos obliga a imaginar una caja opaca que contiene una fuente radiactiva, un contador Geiger, un martillo y un matraz de gas venenoso. Una vez lista la caja, introducimos en ella a un pobre gato, la sellamos y esperamos cierto tiempo, hasta que la fuente radiactiva presenta el 50% de posibilidades de sufrir una desintegración. La mecánica clásica nos enseña que si la desintegración se produce en cualquier momento del experimento, el contador Geiger la detectará, activando el martillo que, al romper el matraz, liberará el gas venenoso y matará al gato. De no ser así, después del experimento el gato estaría aburrido, pero vivo. La mecánica clásica nos enseña que, al abrir la caja, habrá el 50% de probabilidades de que el gato esté vivo y el otro 50% de que esté muerto. Como señaló Schrödinger, la mecánica cuántica nos proporciona otra visión, en la que el gato se define en virtud de una función de onda que resulta de combinar en igual medida dos estados: uno correspondiente al gato aburrido pero vivo y el otro correspondiente al gato muerto. En consecuencia, el gato cuántico está al mismo tiempo vivo y muerto, solo al abrir la caja esos dos estados igualmente frecuentes se colapsan en uno solo, correspondiente a un gato muerto o a un gato vivo.

Cuando vuelvo la vista atrás pienso con frecuencia en el gato de Schrödinger e intento imaginarme vidas alternativas de Modesto Orozco que podrían existir si el universo se olvidara de mí y mi función de onda se definiera según una degenerada serie de estados completamente distintos. Les animo a ponerse en esa situación y descubrir universos paralelos diferentes y apasionantes.

Nací en Barcelona en octubre de 1962. Mis padres tenían estudios mínimos y, en realidad, mi madre, una de las personas más inteligentes que he conocido, era prácticamente analfabeta. No hace falta decir que ni la cultura ni el dinero solían frecuentar nuestra casa. Mi madre y mi padre trabajaban doce horas al día, con poco rendimiento y sin reconocimiento exterior alguno. Ya desde niño llegué a la conclusión de que la probabilidad de éxito en la vida —y en ese momento no tenía claro lo que eso significaba— podía expresarse así:

$$Ps = \alpha \cdot \beta \cdot \gamma$$

En donde α representa las propias capacidades innatas (por ejemplo, la fuerza física o la inteligencia), β es la formación (es decir, el nivel educativo) y γ es un parámetro aleatorio (sí, la «suerte»). Todas las variables de la ecuación 1 están normalizadas, es decir, van de 0 a 1. Merece la pena señalar que, si en alguna de ellas se tiene un cero, mejor esperar a la siguiente reencarnación.

No tardé en darme cuenta de que la ecuación 1 era demasiado simple para reproducir la probabilidad real de éxito. No solo era una cuestión de suerte, de capacidades innatas y de formación, también contaba el grado de solapamiento entre las capacidades y la propia definición de éxito:

$$Ps = \alpha s \cdot \beta s \cdot \gamma$$

En donde $\alpha_S = \alpha \cos(\delta)$ y $\beta_S = \beta \cos(\delta)$; δ representa el ángulo que existe entre la definición de éxito y las capacidades. Perverso, ¿verdad? Para tener «éxito» no solo se necesita tener suerte, capacidades innatas y formación, también es preciso que los propios objetivos (los que para cada uno definen el éxito) estén alineados con las capacidades y la formación.

Volvamos al gato de Schrödinger y pensemos en el Modesto Orozco paralelo que podría también existir si nadie (yo mismo incluido) me estuviera prestando atención. Para simplificar, pensemos únicamente en las vidas que alcanzan un grado razonable de éxito y supongamos que mi coeficiente de «suerte» aleatoria fuera igual en todas ellas. El requisito del «éxito razonable» elimina un número significativo de posibilidades. Por ejemplo, seguramente no sería una estrella de la canción, un artista o un jugador de fútbol, y muy probablemente tampoco un estilista del cabello ni un experto en moda. Sin embargo, creo que sí podría ser, por ejemplo, un cocinero razonablemente bueno, un escritor no demasiado malo o un aceptable profesor de secundaria. Entonces, ¿por qué al final he sido científico?

La curiosidad tuvo mucho que ver en que me encaminara hacia la ciencia, no cabe duda. Ya de adolescente comencé a realizar experimentos químicos en la cocina de casa, la mayoría relacionados con la mejora de la pólvora —afortunadamente con poco éxito—. Después de algunos accidentes que me obligaron a explorar otros campos, comenzó a fascinarme la astronomía. Me pasaba las noches buscando estrellas —algo difícil cuando vives en el centro de Barcelona—, e incluso llegué a concebir un ingenioso método para calibrar la distancia hasta las estrellas, proeza que nunca se me reconoció adecuadamente, puesto que ya se utilizaba en el antiguo Egipto. Durante el difícil periodo adolescente, mis intereses saltaban sin cesar de la biología (por ejemplo, me fascinaban los virus) a la física relativista (la culpa era de *Investigación y Ciencia*) y la química (siempre estaré en deuda con Isaac Asimov).

La educación formal también fue importante a la hora de encaminarme hacia la ciencia. Cursé mis estudios primarios y secundarios en el sistema educativo franquista. Era un periodo oscuro, las aulas estaban repletas, la información que recibías estaba evidentemente sesgada, los castigos físicos no eran infrecuentes y no se ponía ningún empeño en atender a los alumnos con problemas de aprendizaje. Sin embargo, ese sistema tenía una gran ventaja: era prácticamente gratuito y, si un chico de familia pobre —como yo— tenía capacidad e interés, podía sobrevivir y progresar en él. Como no era mal estudiante, conseguí avanzar en el sistema educativo y aprobar los exámenes de ingreso en la universidad. Una vez superadas mis dudas entre Física, Química, Biología y Medicina, tan ingentes como el número de Avogadro, decidí estudiar Química en la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). En esa época, las universidades españolas pasaban por una auténtica revolución,

ya que se estaban creando órganos democráticos y llegaban a los departamentos profesores jóvenes y motivados, muchos de ellos formados en el extranjero, con la clara misión de «cambiarlo todo».

Para ser químico en la España de la época tenías que pasarte cinco años enteros en clase y normalmente un año más haciendo trabajo experimental (la «tesina»). Los primeros tres años se dedicaban a química general y los dos últimos a la especialidad. Cuando me matriculé en Químicas, tenía claro que quería especializarme en Bioquímica Teórica. Sin embargo, al finalizar el último curso común las dudas me asaltaron de nuevo. El culpable fue Juan Bertrán, probablemente el mejor profesor que he tenido en mi vida. Las clases del profesor Bertrán sobre Química Cuántica eran increíblemente divertidas. Al final de cada una de ellas no estaba claro qué habías comprendido del principio de incertidumbre, del modelo de Hückel o del efecto túnel, pero sí estabas convencido de que la Química Teórica era la materia más apasionante del mundo. Me resultó muy difícil seguir mis planes iniciales y elegir la especialidad de Bioquímica. No obstante, al analizar mi trayectoria científica salta a la vista la influencia de las clases del profesor Bertrán.

Tengo que reconocer que no disfruté los dos años de especialidad. En esa época los estudios de Bioquímica eran sobre todo memorísticos y los principales desafíos radicaban en recordar una lista interminable de enzimas, ciclos y metabolitos, carente por completo de lógica o de sentido. El programa se centraba en enseñar el «qué», no el «por qué» ni el «cómo»; es decir, era algo absolutamente ajeno a mis intereses. Me pasé dos años pensando que había elegido mal y, cuando terminé la licenciatura, tenía bastante claro que intentaría hacer mi tesina sobre temas relacionados con la (Bio)química Teórica, alejándome lo más posible de la —para mí— aburrida descriptiva. Mirando hacia atrás, pocas dudas quedan acerca de que mi orientación científica ha venido muy marcada por la educación formal, los programas académicos y las capacidades pedagógicas de los profesores.

La primera dosis de ciencia

En 1985, pocos equipos aplicaban la química teórica al estudio de los sistemas biológicos, y mi colega Javier Luque —ahora catedrático de Química Física en la Universidad de Barcelona— y yo tuvimos la gran fortuna de entrar en uno de ellos, dirigido por Ferran Sanz, en el Institut Municipal d'Investigacions Mèdiques (IMIM). En ese momento, Ferran estaba creando el grupo y pluriempleado en diferentes temas, así que durante cierto tiempo me encontré un tanto perdido. Sin embargo, la experiencia fue magnifica, completé la «tesina» y, cuando abandoné el grupo para terminar mis deberes militares, estaba convencido de que debía intentar doctorarme en Química/Biología Teórica.

La última fase de mi servicio militar se desarrolló en Mallorca. El ambiente era relajado, la isla maravillosa y yo tenía un salario decente y muchísimo tiempo libre, que utilicé para escribir mis primeros artículos partiendo de la labor realizada en el IMIM. No eran trabajos científicos magistrales y la comunidad científica no les prestó ninguna atención, pero sí fueron importantes para que yo reforzara mi idea de ser científico. Como ha explicado estupendamente el escritor Carlos Ruiz Zafón, cuando ves tu nombre sobre un papel en letras

de imprenta, te entra en la sangre el dulce veneno de la vanidad. Nos guste o no, del mismo modo que lo que mueve al político es el poder y al banquero el dinero, lo que mueve al científico es la vanidad —evidentemente, en esto no estamos lejos de las estrellas del pop o de los artistas—. Encuentra a un científico que diga que no es vanidoso y habrás localizado a un mentiroso. Solo después de una esmerada formación y de años de experiencia se puede enmascarar la vanidad —y su prima hermana la arrogancia—, pero si rascamos un poco en el alma del científico encontraremos una espesa capa de ella. Me temo que sí, que la vanidad es una de las principales razones de que me dedique a la ciencia.

La tesis

Mi tesis doctoral la dirigió el profesor Rafael Franco en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Barcelona. El laboratorio de Rafa quería estudiar el comportamiento de una enzima: la adenosina deaminasa, que cataliza la conversión de la adenosina en inosina. Los años de doctorado fueron estupendos. Tenía muy buena relación con mi director, los miembros de su laboratorio eran jóvenes y activos, mi colaboración con Javier Luque fue fructífera y me aproveché del agradable entorno químico teórico del edificio de Química. Vistos desde ahora, esos años fueron apasionantes, ya que la oscuridad del presente no nos impedía soñar con un rutilante futuro. Pero no nos confundamos, a finales de la década de los ochenta la vida era muy difícil para un químico computacional. Los programas no eran ni fiables ni fáciles de usar, y se necesitaba realmente conocer la base metodológica, lo cual me obligó a volver a las clases de la UAB para aprender más Química Cuántica. No solo los programas eran deficientes, sino que los ordenadores eran tortugas gigantescas, tan lentas que cualquier portátil de la actualidad es mucho más rápido que el principal ordenador de la Universidad de Barcelona de entonces, ordenador que daba servicio a cientos de grupos. Las limitaciones de *software* y *hardware* reducían drásticamente los cálculos que se podían hacer en esos años, pero la triste situación tenía tres ventajas evidentes: había que planificar con cuidado los cálculos, entender muy bien el margen de aplicación de los métodos utilizados y todo ello te animaba a coger lápiz y papel y a desarrollar metodología, algo para lo que no se necesitaba músculo computacional.

Como mi beca me permitía pasar tres meses en el extranjero, los utilicé para visitar el laboratorio del profesor Stephen Neidle en el Institute for Cancer Research (ICR) de Sutton, en Inglaterra. Esos tres meses fueron determinantes en mi carrera, ya que me abrieron los ojos a lo que ocurría fuera de Barcelona. Stephen, un cristalógrafo que había descubierto el poder de los métodos informáticos, había comprado un enorme ordenador y había contratado a Charlie Laughton, un inteligente posdoctorando formado en Oxford para que llevara a cabo simulaciones con ADN. Charlie, que sigue siendo uno de mis mejores amigos, se ocupó de mí en el ICR y, derrochando paciencia, me introdujo en el mundo del ADN y en el uso de las técnicas clásicas de simulación. Regresé a Barcelona fascinado con las posibilidades que ofrecían esas nuevas técnicas para llevar la bioquímica al ámbito de las ciencias físicas. Sin embargo, en las últimas fases de mi doctorado, las dudas volvieron a asaltarme: ¿debía atenerme a la senda de la investigación académica o pasar a la industria?, ¿debía solicitar alguna posición en el extranjero? o ¿debía olvidarme de todo y prepararme las oposiciones de enseñanza secundaria?

La llegada al departamento del profesor Joan Guinovart fue crucial para mi carrera —sí, de nuevo el coeficiente del azar—. Era, y sigue siendo, una persona muy entusiasta, muy empática y dotada para la discusión cercana. Joan me convenció de que debía seguir en el mundo de la ciencia y de que conseguir una plaza fija en el Departamento de Bioquímica era un buen paso en esa dirección. En ese momento, conseguir tal cosa en la universidad española no era tan difícil como ahora, y con un currículum aceptable —no necesariamente sobresaliente—, un poco de experiencia docente y dotes para la comunicación se podía obtener un puesto fijo. Honestamente, no está claro si eso fue bueno para la universidad española, pero, en cualquier caso, yo aprobé mi oposición en noviembre de 1989 y en 1990 era el profesor titular más joven del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Barcelona. España tenía otro funcionario.

Con veintiocho años tenía garantizado un salario de por vida, algo positivo sin duda, pero en el departamento no había espacio para investigar, ni dinero para emprender proyectos, ni recursos informáticos, y solo contaba para ayudarme con un estudiante de máster, Carlos Alemán, que se mantenía dando clases particulares y organizando la sala de ordenadores de los estudiantes. (Carlos, todavía un buen amigo, hizo posteriormente su doctorado en la Universitat Politècnica de Catalunya, en la que ahora es catedrático.) Pero lo peor es que, con veintiocho años, mi concepción de la ciencia era muy estrecha. En resumen, las posibilidades de tener una buena carrera científica quedándome en Barcelona eran prácticamente nulas. En el espacio real, gracias a Dios, ¡la probabilidad no puede ser negativa! No se me escapaba que debía entrar en contacto con un entorno de investigación más activo antes de intentar crear mi propio grupo de investigación. De nuevo tuve suerte y obtuve una beca Fulbright para trabajar en Estados Unidos, donde se estaba produciendo una auténtica revolución en la frontera entre la física, la química teórica y la biología. Siempre estaré en deuda con la comisión Fulbright.

El periodo estadounidense

En 1991, mi esposa Mari Luz y yo metimos todas nuestras pertenencias en tres maletas y nos trasladamos a New Haven, Connecticut. En ese momento comencé mi periodo posdoctoral —oficialmente sabático— en el Departamento de Química de la Universidad de Yale, una universidad diseñada para impresionar, para convencerte de su grandeza y de tu propia pequeñez. En Yale, el peso de la historia es omnipresente y la excelencia se puede apreciar no solo en los laboratorios y las oficinas, sino en los pasillos, en la cantina o en el campo de tenis. Yale, al igual que otras universidades emblemáticas, genera una fuerte sensación de pertenencia, haciendo que la gente se sienta orgullosa de trabajar allí y de contribuir a su futura reputación. Cuando nuestras universidades nos inspiren el mismo sentimiento podremos considerarnos una sociedad madura.

Mi mentor en Yale fue el profesor William Jorgensen, pionero en la aplicación de enfoques informáticos al estudio de sistemas químicos y bioquímicos complejos. Antes de trasladarse a Yale, Bill ya había desarrollado el famoso modelo de agua TIP3P (hasta la fecha, el artículo del *Journal of Chemical Physics*[1] en el que presentó el modelo se ha citado en más de 15.000 ocasiones) y también la primera versión de su campo de fuerza OPLS para proteínas, que

abrió la puerta a la fascinante posibilidad de simular la dinámica de las proteínas. Comencé a trabajar en dos proyectos de alto riesgo, uno sobre el mecanismo de reconocimiento y de catálisis de una rotamasa (FK506BP) y otro sobre la base del desplegamiento químico de las proteínas. Ambos eran rompedores y constituían un enorme desafío: comportaban la resolución de múltiples problemas técnicos y sus cálculos tenían un enorme coste computacional. De hecho, uno de mis proyectos sobre el desarrollo de la barnasa, inducido por la urea, se terminó dos años después de que me fuera de Yale, y conllevó tres años enteros de actividad constante de una CPU. Bill era, y es, una persona imponente, que en todos suscitaba respeto, admiración y algo de miedo. Siempre que hablabas con él tenías la sensación de que te estaba examinando, y solo había dos resultados posibles: o te colocaba en una gran caja, donde acababan casi todos, o en una minúscula, donde únicamente terminaban aquellos que él consideraba «brillantes». Bill es muy inteligente, un científico sólido, visionario y extremadamente meticuloso. Lo que más miedo le daba entonces —y creo que todavía— era publicar un artefacto ocasionado por un error de programación o de cálculo, o por una interpretación equivocada de los resultados. A pesar de que solo hablábamos personalmente una vez al año, aprendí muchas cosas de Bill, como la necesidad de vincular los cálculos a los experimentos, la importancia de detectar problemas biológicos interesantes antes de comenzar las simulaciones y los riesgos que conlleva adaptar problemas a la metodología en lugar de adaptar esta última a los problemas. El efecto secundario de todo eso fue mi obsesión enfermiza con la fiabilidad y la calidad de los cálculos.

El equipo de Bill, que era enorme, estaba bien financiado y rebosante de investigadores posdoctorales con buena formación, algunos de ellos «halcones» deseosos de progresar académicamente. En consecuencia, el ambiente científico era muy propicio para un joven inquieto como yo. Era un laboratorio que ofrecía posibilidades increíbles a quien quisiera aprender de una amplia gama de personas y especialidades. Mi principal fuente de conocimiento fue Julián Tirado Rives, el colaborador principal de Bill, que aún sigue siendo un gran amigo mío. De Julián aprendí gran parte de lo que sé sobre simulación molecular, pero lo más importante fue que, después de muchos cafés en su oficina, donde amablemente destrozaba mis «brillantes» ideas, aprendí a rebajar mi innata arrogancia, a escuchar con gran atención a los demás y a valorar a los colegas que, aun siendo muy inteligentes, no intentan demostrarlo constantemente. Para un científico, la vanidad es una condición de frontera, pero con Julián aprendí a controlarla, a hablar menos y a escuchar más.

Cuando mi beca Fulbright estaba llegando a su fin, las dudas viajaron a New Haven. Mi esposa tenía una plaza permanente en el Departamento de Química de Yale como responsable del laboratorio docente de Química Orgánica, y en Estados Unidos estábamos encantados. Estaba claro que allí había posibilidades de conseguir un puesto potencialmente fijo, en tanto que en Barcelona no era mucho lo que podía esperar un joven químico teórico que trabajara en biología. Todavía no he comprendido del todo por qué regresamos a España. Probablemente fuera una mezcla de razones personales (en catalán decimos *roda el món i torna al born*, es decir, «recorre el mundo y regresa a tu tierra»): la presencia de Javier Luque en la Facultad de Farmacia de Barcelona, mi fobia a los cambios de planes y una cuestión no menor, mi plaza fija en la Universidad de Barcelona, algo que garantizaba la estabilidad. Al

recordar lo cerca que estuve de desarrollar mi carrera científica en Estados Unidos, me parece incomprensible el entusiasmo que pone nuestro sistema científico en incentivar a equipos de investigación estadounidenses o europeos, ya de por sí magníficos, regalándoles a nuestros mejores estudiantes posdoctorales, a los que luego nos negamos a recuperar. ¿Acaso esperamos que los mejores aguarden durante años para conseguir contratos de corta duración con salarios que suponen la mitad de lo que se gana fuera, sin dinero para proyectos, sin estabilidad y sin perspectivas de futuro en un ecosistema científico enormemente deprimido?

Primeros pasos como jefe de un equipo propio

La experiencia en Yale fue excelente para obtener una visión científica vital, convencerme de que podía competir con la élite de la disciplina, establecer contactos que aún mantengo y ganarme el respeto de la comunidad de biofísicos computacionales. Lo peor fue el regreso a Barcelona, donde todo se había quedado como congelado en una fotografía estática hecha dos años atrás. El espacio y los recursos eran limitados y en el departamento no suscitó mucho entusiasmo que un nuevo equipo pidiera su parte alícuota de uno y otros. Después de muchas discusiones, conseguí diez metros cuadrados en un cuarto oscuro situado al final de un pasillo. Diez metros cuadrados no parecen nada, pero en ese espacio cabe mucho entusiasmo. Gracias a una excelente generación de estudiantes (Carles, Cristóbal, Bego, Elena, Xavi y Robert, a los que siempre estaré agradecido), a la primera beca que recibí de la Unión Europea y a mi estrecha colaboración con Javier, comencé mi propia carrera, trabajando en dos áreas distintas: el desarrollo de modelos simplificados para la representación de los efectos de los solventes y el estudio del reconocimiento macromolecular.

A finales de la década de los ochenta y comienzos de la de los noventa, los químicos computacionales comprendieron que el solvente no era un mero espectador, sino que desempeñaba un papel clave en la modulación de las propiedades y la reactividad químicas. El trascendental trabajo de Jorgensen, Karplus, McCammon, Levitt, Warshel, Kollman y otros (Karplus, Levitt y Warshel —KLW— recibieron el Premio Nobel de Química en 2013) había demostrado que gran parte de la reactividad que conocemos no se puede explicar sin tener en cuenta el efecto del agua y que, en consecuencia, había que incorporar los solventes a los cálculos relativos a los sistemas químicos-bioquímicos reales. Lamentablemente, no es este un asunto trivial, ya que la solvatación se define a partir de un conjunto móvil de moléculas de solvente, el número de partículas a considerar y su movilidad hace que no puedan representarse con métodos cuánticos mecánicos (QM), precisos pero demasiado caros computacionalmente. En esa época se barajó una posibilidad, sugerida por Jorgensen, de dejar a un lado la naturaleza cuántica del soluto y representarlo todo en el ámbito de la mecánica molecular (MM). Otra posibilidad, propuesta inicialmente por KLW y llamada enfoque híbrido QM/MM, representaba el soluto en el nivel de QM y el solvente en forma de las clásicas partículas móviles. El enfoque QM/MM era extremadamente lento y el acoplamiento de los ámbitos cuántico y clásico del sistema no solía ser trivial, en tanto que la utilización de MM, aun siendo ligeramente más eficiente, adolecía de las limitaciones del marco clásico. Javier y yo decidimos probar un planteamiento alternativo, anteriormente propuesto por el profesor Jacopo Tomasi en Pisa. Jacopo, un magnífico químico cuántico, desarrolló en la década de los ochenta un método

para explicar la respuesta electrostática del solvente en presencia de un soluto diluido recurriendo a la teoría cuántica del campo de reacción autoconsistente (SCRF). Las ideas de Jacopo se habían publicado en una modesta revista de cuántica y poca gente les había prestado atención, pero nosotros creímos que podían explotarse para desarrollar un nuevo método de solvatación, rápido y preciso. Nuestra intención era definir con más exactitud la frontera entre soluto y solvente, incorporando términos no electrostáticos parametrizados a partir de simulaciones atómicas y datos experimentales. Esos fueron tiempos apasionantes, en los que Javier y yo contamos con el apoyo de Jacopo y la ayuda de muchos otros colegas, de los cuales quizá el más influyente fuera Jiali Gao, ex alumno de Jorgensen y estudiante posdoctoral con Karplus (Jiali, también buen amigo mío, es ahora profesor en la Universidad de Minnesota). El modelo desarrollado (llamado MST en honor a Miertus, Scrocco y Tomasi, autores del artículo publicado en 1981 en *J Chem Phys*, que se comenta en *Chemical Reviews*,[2] y que ha sido citado en 450 ocasiones hasta la fecha, proporcionó por primera vez energías libres de solvatación con precisión química. Esto permitió estudiar de qué manera el solvente modula la química de un proceso. Si tuviera que elegir una sola aportación derivada del uso de MST, sería el descubrimiento de que el emparejamiento de bases de Watson-Crick en el ADN no es más que un efecto secundario de la solvatación acuosa, ya que el agua perturba las preferencias tautoméricas naturales de ceto-enol y amino-imino de las bases nitrogenadas.[3]

Durante más de una década dedicamos mucho esfuerzo a nuestro modelo del continuo, desarrollando versiones capaces de trabajar con sistemas de enorme tamaño y otros adaptados al entorno del diseño de fármacos. Sin embargo, en cierto momento quedó claro que el método ya había alcanzado la madurez y que no tenía sentido dedicarle esfuerzos titánicos a obtener mejoras marginales. No resulta fácil abandonar una línea de investigación fructífera, pero ni Javier ni yo queríamos vincular toda nuestra carrera científica a los métodos de solvatación continuos. De manera que, poco a poco, fuimos abandonando este campo para centrar nuestras energías en otros. No obstante, en mi corazón siempre habrá un rincón para la belleza de las ecuaciones utilizadas para representar la solvatación dentro de la teoría del SCRF. Como me dijo en una ocasión un amigo, en la memoria de los lectores un artículo perdura uno, cinco o diez años, pero una ecuación es para siempre.

Los métodos del SCRF eran magníficos para estudiar las propiedades de las moléculas en fases homogéneas condensadas, pero al volver de Yale yo tenía muy claro que no solo quería estudiar solutos pequeños en fases condensadas, sino macromoléculas biológicas reales en entornos fisiológicos. Desgraciadamente, en Barcelona los recursos informáticos eran tan malos que durante un par de años la única posibilidad que tuve de realizar simulaciones de peso fue durante breves visitas a Yale; por lo demás, lo único que podía hacer era estudiar detenidamente las interacciones fundamentales que se producían en modelos de sistemas de proteínas y ácidos nucleicos (enlace de hidrógeno, apilamiento, interacciones de catión-π, etcétera). Si tuviera que elegir un artículo representativo de este periodo y de sus estudios sería el publicado en *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*,[4] citado en más de doscientas ocasiones hasta la fecha, en el que demostrábamos por primera vez el impacto de la polarización en las interacciones de catión-π. Estoy especialmente orgulloso de ese artículo, por muchas razones: dieciséis años después sigue considerándose «la

referencia» en su campo, se realizó utilizando métodos cuánticos de creación «propia», contribuyó al descubrimiento de nuevas interacciones (interacciones anión-π) y —de nuevo la vanidad— lo escribí prácticamente entero durante un largo vuelo desde California. Los conocimientos técnicos que nos reportaron esos estudios han sido de incalculable valor para mi carrera. Al volver la vista atrás, tengo que reconocer que quizá fuera una suerte contar entonces con recursos tan lamentables. La pobreza nos obligó a ser más imaginativos, a buscar escenarios sin explotar y, al no tener «músculo» informático, a utilizar más la cabeza.

Esperanzas de cambio en el ecosistema de la investigación en Barcelona

A finales de la década de los noventa, mi equipo había ganado tamaño y cierta visibilidad, y a mí se me relacionaba con la imagen del «joven lobo». Publicábamos con regularidad en buenas revistas, me invitaban con frecuencia a hablar en congresos internacionales y el laboratorio comenzó a recibir fondos de manera sostenida. Compramos algunos ordenadores y se unió al grupo Josep Lluís Gelpí, un enzimólogo con enormes conocimientos de programación, lo cual amplió el abanico de proyectos a los que podíamos dedicarnos. Obtuvimos algunas ayudas que utilizamos para incrementar nuestras capacidades informáticas, lo que nos permitió llevar a cabo nuestro primer estudio dinámico de biomacromoléculas. En esa época, el laboratorio recibió al primer investigador de año sabático, se trataba de George Shield, ex estudiante posdoctoral del laboratorio de Steitz (otro premio Nobel) en Yale (donde solucionó el complejo CAP-ADN) y en ese momento profesor en el Lake Forest College. George tenía pensado pasar su año sabático en Barcelona disfrutando de la ciudad y pasando de la cristalografía a la simulación. Yo quería trabajar con ADN desde mi época predoctoral en Reino Unido, pero para eso necesitaba grandes recursos informáticos y, además, múltiples problemas metodológicos dificultaban enormemente ese paso. En consecuencia, durante muchos años había evitado el ADN. La presencia de George, una persona bien formada, no acuciada por la defensa de su tesis y encantada de perder un año de trabajo recabando resultados insólitos, fue la excusa que necesitaba para saltar al mundo del ADN. El sistema que elegimos para iniciar nuestra aventura con ácidos nucleicos fue el ADN triple, una molécula sujeta a un prolongado debate entre los rayos X y la RMN sobre la naturaleza de su estructura (de tipo A para los partidarios de los rayos X, de tipo B para los expertos en RMN). El punto de partida del estudio era muy sencillo: realizar dos simulaciones de DM no sesgadas de un ADN triple en agua, con la hélice definida originalmente en una de sus dos composiciones canónicas (A y B). En un mundo ideal, la simulación de DM debía conducir la estructura a la forma más estable y a la convergencia en ella de las dos simulaciones. La idea era sencilla, pero las posibilidades de éxito prácticamente nulas, ya que el campo de fuerza no era muy preciso y nuestra capacidad de muestreo era muy limitada (no podíamos realizar más de un millón de integraciones de las ecuaciones del movimiento de Newton al año; es decir, podíamos reunir en torno a 1 ns/CPU al año). Tuvimos muchísima suerte, ya que la transición A⟷B se produjo en la escala temporal del subnanosegundo, y George observó una magnífica y espontánea transición de A→B, acabando con el debate sobre la estructura del ADN triple en solución (avalando los modelos de la RMN). Los resultados, publicados en el *J Am Chem Soc*,[5,6] nos dieron mucha visibilidad

en ese campo, consiguieron pronto multitud de citas y a mí me convencieron de que las simulaciones con ácidos nucleicos eran de alto riesgo pero potencialmente muy fructíferas. George regresó a Estados Unidos, y desde entonces la simulación de ácidos nucleicos ha sido una de las principales áreas de investigación de mi equipo y quizá sea en la que más visibilidad internacional hemos conseguido.

A finales de la década de los noventa, las cosas iban razonablemente bien; el equipo lo componían unas diez personas y teníamos varios ordenadores (entre ellos unos servidores SGI Origin, enormemente sólidos, probablemente las mejores estaciones de trabajo de la historia). Sin embargo, a pesar de esa evolución, seguíamos confinados en el mismo cuarto oscuro, sin esperanza alguna de cambio. El calor que generaban tanto las personas como los ordenadores y nuestra privilegiada ubicación en el último piso del edificio de Química nos otorgaban una temperatura constante de entre 39 y 42 grados durante todo el verano. Con los primeros desmayos convencimos a la universidad de que nos instalara aire acondicionado, pero como no había potencia suficiente para tener conectados al mismo tiempo los ordenadores y el aire, era habitual que las CPU sufrieran cortes de tensión. En medio de esa caótica situación recibí un par de ofertas de Estados Unidos, una de una institución académica, la otra de una farmacéutica, y volvieron a asaltarme las dudas. ¿Debía seguir intentando desarrollar un equipo en esas condiciones o marcharme sin más a Estados Unidos, aprovechando que mi primer hijo, Mode, era muy pequeño y, por lo tanto, todavía fácil de trasladar? Al final decidí quedarme en Barcelona, y uno de los principales responsables fue el profesor Màrius Rubiralta. En ese momento, Màrius era vicerrector de Investigación en la Universidad de Barcelona, además de seguir investigando en temas de química orgánica (para entonces ya habíamos publicado unos cuantos artículos juntos). Él comprendió que el marco universitario no era el óptimo para realizar investigación y que era realmente malo para trasladar la investigación a la industria. Concibió nuevos centros de investigación que, denominados «parques científicos», la organizarían con un paradigma más flexible y competitivo que las universidades, mejorando la colaboración con la industria. Màrius era un líder que vendía estupendamente sus ideas y, gracias a la favorable situación económica, fue posible sentar las bases del Parc Científic de Barcelona y nuclear los conceptos generales de los que surgieron todas las instituciones de élite españolas. Desde un punto de vista personal, la posibilidad de trasladarme a un nuevo centro de investigación regido por los paradigmas imperantes en Reino Unido o Estados Unidos era la excusa que necesitaba para seguir vinculado a Barcelona.

El nuevo siglo comenzó con multitud de esperanzas y emociones. La llegada de Sergi, mi segundo hijo, conllevó un considerable incremento de las tareas domésticas, las ideas del Parc Científic comenzaron a concretarse y, a nuestro alrededor, el experimentalismo empezó a cambiar de forma apreciable, dejando atrás un gran recelo hacia el modelo teórico para comenzar a confiar en él, lo que nos ofreció la posibilidad de refrendar nuestros modelos y de emprender proyectos más ambiciosos que conjugaran teoría y experimentación. Alentados por las colaboraciones con los experimentalistas, volvimos al mundo de la simulación con proteínas que, debido a las enormes limitaciones informáticas, yo había tenido que abandonar al regresar a Barcelona. La colaboración con equipos de química médica terminó con el desarrollo de fármacos muy potentes que conducían a fases clínicas[7] y la

cooperación con cristalógrafos fue crucial para comprender los mecanismos de reacción de varias enzimas.[8] El trabajo conjunto con Ramón Eritja, químico sintético del CSIC, impulsó nuestra investigación del ADN, ya que la posibilidad de contrastar los resultados de nuestras simulaciones nos animó, por ejemplo, a diseñar nucleótidos modificados capaces de estabilizar formas concretas de ADN o a indagar en cómo interactúan el ADN y los fármacos. Estoy muy orgulloso de la creatividad y el impacto que tuvo nuestro trabajo en esa época;[9-14] algunos de los artículos sobre ADN publicados entonces se consideran «clásicos» dentro del mundo de la simulación con ADN.

Un nuevo ecosistema para la investigación en Barcelona

La presencia del profesor Andreu Mas-Colell en el Gobierno catalán fue crucial para la creación de nuevos centros de investigación y, en general, para la configuración de un mapa de la investigación en Cataluña. Esas nuevas instituciones comenzaron a concretarse a mediados de la primera década del siglo. Se culminó la construcción de la primera fase del Parc Científic de Barcelona y, casi en paralelo a que obtuviera mi cátedra universitaria, nos trasladamos al nuevo espacio. Para mí, el traslado no supuso un cambio de salario, ni tampoco más fondos para investigar, ni nuevos equipos informáticos, pero sí estrenamos un nuevo laboratorio de 150 metros cuadrados especialmente preparado para nosotros. Lo más importante es que me vi rodeado de investigadores muy motivados procedentes de distintas instituciones y en un centro en el que la organización del personal y la calidad de los laboratorios prometían estar más cerca de las de los centros internacionales de primer orden.

En el norte de Europa las cosas se suelen planificar con mucho cuidado y los planes se mantienen hasta el final, lo que supone que normalmente los proyectos se desarrollan en modelo de flujo laminar, es decir, son aburridos para los periodistas, pero eficaces. En el sur de Europa a la gente se le da estupendamente bien hacer planes, podemos hacer fácilmente hasta treinta al día, aunque no suelen suscitar consensos y su vida media es de pocos días. En consecuencia, nuestros proyectos siempre se desarrollaban bajo un régimen de desconcierto. Estaba claro que el Parc Científic de Barcelona era un proyecto sureño que desde sus inicios tuvo que sobrevivir en medio de turbulencias —tengo que decir que con un número de Reynolds muy elevado—. En los primeros años del nuevo siglo, durante un periodo bastante prolongado, la gestión del Parc fue imposible de comprender y sus políticas de larga duración solo estaban en vigor hasta el fin de semana siguiente. Sin embargo, muy poco a poco, el Parc fue convirtiéndose en un receptáculo de centros de investigación con independencia científica y jurídica. Este nuevo escenario es en el que, gracias a la labor de Joan Guinovart y al apoyo de Andreu Mas-Colell, nació el Institute for Research in Biomedicine (IRB Barcelona), oficialmente en 2005. En menos de diez años, el IRB ha alcanzado la madurez, convirtiéndose en uno de los mejores centros de investigación biomédica de Europa. En gran medida, su éxito puede atribuirse a Joan. Vaya desde aquí mi admiración, respeto y gratitud por sus esfuerzos durante todos estos años.

Paralelamente a la génesis del IRB, Mateo Valero y otros compañeros de la Universitat Politècnica de Catalunya intentaban convencer a IBM de que la sede europea de su nuevo

supercomputador estuviera en Barcelona. En contra de toda lógica lo consiguieron, con lo que *Marenostrum*, el cuarto supercomputador más grande del mundo, y el primero en Europa en su momento, llegó a la ciudad, instalándose en un nuevo y flamante instituto: el Barcelona Supercomputing Center (BSC). Con gran rapidez, Barcelona se convirtió en referencia de la computación a gran escala, principalmente gracias a la labor de un reducido grupo dirigido por Mateo y por Francesc Subirada, una persona proveniente de IBM y que fue crucial para la «explosión» del centro. Me enorgullece haber contribuido al éxito del BSC desde el discreto puesto de director del Departamento de Ciencias de la Vida, un departamento que con el tiempo derivó en un programa conjunto BSC-IRB de investigación en Biología Computacional, al que recientemente se ha añadido el Centre de Regulació Genòmica (CRG). Estoy muy orgulloso del increíble desarrollo registrado en el BSC durante estos diez años y de la influencia que está teniendo en la investigación biológica en Europa. Sin embargo, la mayor parte del éxito del centro hay que atribuírselo a Mateo y Francesc. Ha sido un honor y un privilegio trabajar con ellos.

Podría parecer que todo ese periodo lo pasé dedicado a la política científica, pero, si he de ser sincero, el esfuerzo lo hicieron otros, mientras yo dedicada gran parte del tiempo a la investigación, donde se produjeron importantes cambios. Probablemente, los más determinantes tuvieron que ver con la incorporación al equipo de Xavier de la Cruz, un investigador Ramón y Cajal, posteriormente profesor de investigación en la Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), que procedía de Cambridge y tenía una sólida formación en bioinformática. Xavier, un científico muy tranquilo y de fuste, me convenció de que debía utilizar enfoques basados en datos cuantitativos para abordar problemas imposibles de afrontar con enfoques fundamentados en nuestros presupuestos físicos. En pocas palabras, Xavier incorporó la bioinformática a mi equipo, con lo cual nos abrió nuevos e inexplorados horizontes. Posiblemente, el producto principal de la estancia de Xavier en el equipo fuera PMut, uno de los métodos más utilizados para pronosticar mutaciones patológicas. El servidor en el que reside recibe miles de datos al año, y los dos artículos en los que explicamos ese método[15,16] han sido citados casi en quinientas ocasiones hasta la fecha.

Un científico veterano

Es sorprendente, pero un buen día acudes a una reunión y te das cuenta de que la gente ya no te considera un joven prometedor y agresivo, ni un antiguo colaborador de Jorgensen, sino un científico veterano. Eso fue lo que me ocurrió en la segunda mitad de la pasada década y, francamente, no me resultó agradable. Todavía me siento más cómodo considerándome un científico joven, pero sí, tengo que reconocer que a finales de la década de 2000 ya era un científico veterano que estaba asumiendo responsabilidades claras en gestión de la investigación. De esas labores administrativas, como he comentado, la más gratificante fue la que condujo a la creación del Departamento de Ciencias de la Vida en el BSC y al Programa de Investigación Conjunta en Biología Computacional suscrito por el IRB y el BSC. Como la economía infló las velas de la ciencia, por primera vez tuvimos posibilidades reales de contratar a extranjeros con talento. Fue un periodo de ensueño para el programa, en el que contratamos a jóvenes científicos de enorme talento (Patrick Aloy

y David Torrents, del EMBL; Juan Fernández-Recio y Xavier Salvatella, de la Universidad de Cambridge; y Victor Guallar, de la Universidad de Washington). En poco tiempo me vi rodeado de jóvenes inteligentes y entusiastas, lo que proporcionaba una oportunidad increíble para aprender de ellos, además de posibilitar la creación de un pequeño entorno de investigación que muy rápidamente ha ganado visibilidad internacional.

Desde el punto de vista puramente científico, el acceso a las instalaciones del BSC y el apoyo de la Fundación Botín nos permitieron jugar en la primera división de las simulaciones moleculares. Pudimos, por ejemplo, crear el primer mapa dinámico de la flexibilidad de las proteínas, permitiéndonos pensar en la posibilidad de explorar sistemáticamente las correlaciones entre los movimientos funcionales y la flexibilidad intrínseca de las proteínas. Con este mismo objetivo, y animados por la incorporación al equipo de varios físicos, comenzamos a desarrollar diversos modelos de grano grueso que, después de una cuidadosa parametrización, demostraron ser muy capaces de detectar, con un reducido coste informático, la flexibilidad de las proteínas (esos métodos se han revisado recientemente en *Chemical Society Reviews*[17]). En el campo del ADN, nuestro producto más visible durante ese periodo fue el desarrollo de un nuevo campo de fuerza para simulaciones de la DM en el ADN. Después de más de tres años de gran esfuerzo, Alberto Pérez, un estudiante con mucho talento del equipo, perfeccionó el parmbsco, considerado el «patrón oro» de la simulación con ADN.[18] En menos de siete años, los dos artículos con los que se presentó y validó el campo de fuerza[19] se han citado en más de novecientas ocasiones. El acceso al parmbsco abrió la puerta, por ejemplo, al estudio de procesos nunca explorados, como el plegamiento y despliegue de los ácidos nucleicos,[20,21] facilitando el desarrollo de modelos de flexibilidad de grano grueso para el ADN. Esos modelos eran tan eficientes desde el punto de vista computacional que pudimos utilizarlos para analizar las propiedades físicas del ADN en el nivel del genoma. Combinamos nuestro conocimiento de esas propiedades con la experiencia adquirida en el campo de la bioinformática para crear ProStar, un programa desarrollado por Ramón Goñi, otro excelente estudiante. Utilizando ProStar, Ramón pronosticó la presencia de promotores humanos seis años antes de que se demostraran experimentalmente.[22,23] Estos resultados apuntaban a la existencia de una correlación entre propiedades físicas y reguladoras del ADN. Muchos de nuestros proyectos actuales con el ADN y la cromatina surgieron de este descubrimiento.

Los últimos años

A la física no le gustan las discontinuidades, ya que vulneran las normas y hacen que los pronósticos sean poco fiables. Además, la física no tolera que se invierta la dirección ni del tiempo ni de las flechas de entropía. Lamentablemente, ni a la política ni a la economía les molesta mucho ir en contra de los principios físicos. Disfrutan de las discontinuidades y no les importa retrotraerse veinte o treinta años. Personalmente, no puedo quejarme. Tanto el BSC como el IRB son entornos seguros y mi equipo ha conseguido sobrellevar la crisis con muy buena financiación de la Unión Europea. Sin embargo, es muy difícil no identificarse con los buenos equipos científicos que han desaparecido en ese periodo, e imposible pasar por alto las terribles consecuencias de estos años oscuros para el ecosistema de la investigación en España.

Al tiempo que costaba más encontrar recursos para investigar, mis tareas administrativas iban en aumento. El objetivo dejó de ser la expansión, la contratación de nuevos jefes de grupo que crearan un entorno de investigación homologable al de los mejores centros de Europa, para limitarse a la pura y simple resistencia. Todos los esfuerzos se centraban en intentar evitar que nuestros propios jefes de grupo se trasladaran a otros centros europeos o estadounidenses. Atacar es mucho más creativo y divertido que defenderse, y estos años navegando a contracorriente han sido agotadores. La parte positiva es que, en el momento de escribir este texto, puedo decir con orgullo que nuestro microentorno está resistiendo bien la crisis, el pesimismo y el riesgo de derrumbe estructural. Como tres de nuestros jefes de grupo cuentan con una beca del European Research Council (ERC), y al haberse ampliado recientemente el Programa Conjunto al CRG (el otro gran polo de investigación en biología computacional de Barcelona), estoy convencido de que, cuando acabe la crisis, estaremos en disposición de volver a crecer.

En nuestro entorno, el cambio más perturbador de estos últimos años ha sido el relacionado con la puesta en marcha de un laboratorio experimental. A finales de 2014, caben pocas dudas de que la teoría ya ha calado en la investigación biológica ortodoxa. Está claro que la frontera entre teoría y experimentación es difusa y que ya no hay diferencia entre experimentalistas y teóricos. En consecuencia, el paradigma que dividía a los laboratorios entre «secos» y «húmedos» ya no existe, y los laboratorios han entrado en un entorno «neblinoso». Me encantaría poder decir que fui un visionario cuando hace años convencí a Joan Guinovart de que, dentro del Programa de Investigación Conjunta, había que montar un laboratorio, el EBL (de incalculable valor fue en este sentido y en muchos otros el apoyo de Francesc Subirada). Lamentablemente, tengo que reconocer que me limité a adoptar ideas de los demás, sobre todo de Jorgensen, que estando en la cima del mundo teórico organizó hace diez años un laboratorio experimental, y de Patrick, que llegó al IRB con el planteamiento claro sobre la necesidad de validar experimentalmente los modelos teóricos. El EBL, que lleva funcionando más de cinco años, ya es una plataforma consolidada que están copiando otros institutos y programas similares.

La influencia de la experimentación en nuestras últimas aportaciones es indudable. No solo porque nuestro equipo recabó evidencias para refrendar nuestros estudios teóricos, aumentando nuestra confianza en los modelos teóricos, sino porque, de repente, muchos experimentalistas confiaron en nuestras simulaciones y quisieron que participáramos en sus proyectos o tuvieron la amabilidad de colaborar en los nuestros. Tuvimos el placer de ver cómo nuestros cálculos, ya antes de su publicación, eran directamente refrendados por técnicas experimentales. Por ejemplo, nuestro pronóstico de la constante dieléctrica del ADN se validó al mismo tiempo mediante un estudio AFM;[24] la dinámica del ADN en entornos anhidros[25,26] la verificaron otros colegas que trabajan con ESI-MS; en tanto que la estructura y el comportamiento de derivados inusuales del ADN,[27,28] o los del ADN corriente en solventes inusuales,[29] se confirmaron al integrar datos de RMN procedentes de diversos grupos. La estrecha colaboración con equipos que utilizan cristalografía de rayos X nos permitió analizar la susceptibilidad enzimática del ADN con un nivel de precisión imposible cuando se parte de simples cálculos teóricos.[30] La integración de los datos experimentales también fue crucial para comprender mejor las grandes transiciones estructurales que sufren las proteínas y

cómo se perturba en ellas la transferencia de información (por ejemplo, los datos de RMN presentados en *PNAS*,[31] o los de rayos X en *Nature Commun*,[32] o en *PNAS*[33]).

Ha sido muy interesante este ejercicio de volver la vista atrás. Yo no confío en el destino y sigo estando convencido de que, si me durmiera mientras el universo se olvida de mí, podría despertarme en una vida completamente distinta y utilizar mis capacidades en otro contexto, quizá ortogonal respecto a la ciencia. Soy científico porque mis capacidades encajaban bien con las que se precisan para serlo, porque me encanta la sensación de saber algo que nadie más sabe (una reformulación de la vanidad) y porque soy curioso por naturaleza, pero también por múltiples condiciones estocásticas, por situaciones y personas que se conjugaron para conducirme hasta este punto, donde hago algo que realmente me gusta.

Dado que parece que la edad de jubilación seguirá retrasándose en España, seguramente continuaré unos pocos eones más al pie del cañón. ¿Cómo veo el futuro? Bueno, se atribuye a Niels Bohr la siguiente frase, aunque un amigo me dijo que no es más que un antiguo proverbio danés: «Es muy difícil predecir, sobre todo el futuro». Al margen de que el autor de esta reflexión recibiera el Premio Nobel, yo estoy totalmente de acuerdo con ella. Investigar es como escribir un relato, al principio los personajes del libro hacen lo que tenías previsto, pero pasado un tiempo cobran vida y comienzan a tomar sus propias decisiones en la dirección que marca la historia. Es útil concebir planes de investigación para los siguientes tres, cinco o diez años, pero cualquier científico sabe que esos planes no se cumplen. No obstante, y con toda la incertidumbre que rodea predecir los futuros intereses, sé que dedicaré el resto de mi carrera científica a intentar apartar el pensamiento mágico de la biología y a tratar de mejorar la descripción de los organismos vivos a partir de simples normas físicas y químicas.

Bibliografía

1. W. L. Jorgensen, J. Chandrasekhar, J. D. Madura, R. W. Impey y M. L. Klein, «Comparison of simple potential functions for simulating liquid water», en *J Chem Phys*, vol. 79 (2), 1983, pp. 926-935.

2. M. Orozco y F. J. Luque, «Theoretical methods for the description of the solvent effect in biomolecular systems», en *Chem Rev*, vol. 100 (11), 2000, pp. 4187-4226.

3. C. Colominas, F. J. Luque y M. Orozco, «Tautomerism and protonation of guanine and cytosine. Implications in the formation of triplex DNA», en *J Am Chem Soc*, vol. 118, 1996, pp. 6811-6821.

4. E. Cubero, F. J. Luque y M. Orozco, «Is polarization important in cation-p interactions», *PNAS*, vol. 95, 1998, pp. 5976-5980.

5. G. Shields, C. Laughton y M. Orozco, «Molecular dynamics simulations of the d(T.A.T) triple helix», en *J Am Chem Soc*, vol. 119, 1997, pp. 7463-7469.

6. G. Shields, C. Laughton y M. Orozco, «Molecular Dynamic simulations of the PNA.DNA.PNA triple helix in aqueous solution», en *J Am Chem Soc*, vol. 120, 1998, pp. 5895-5904.

7. P. Camps, R. El Achab, D. Görbig, J. Morral, D. Muñoz-Torrero, A. Badía, J. E. Baños, N. M. Vivas, X. Barril, M. Orozco y F. J. Luque, «New Tacrine-Huperzine A hybrids (Huprines): Highly potent tight-binding Acetylcholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer´s disease», en *J Med Chem*, vol. 43, 2000, pp. 4657-4666.

8. S. Kalko, J. L. Gelpí, I. Fita y M. Orozco, «Theoretical study of the mechanisms of substrate recognition by Catalase», en *J Am Chem Soc*, vol. 123, 2001, pp. 9665-9672.

9. E. Cubero, R. Güimil-García, F. J. Luque, R. Eritja y M. Orozco, «The effect of amino groups on the stability of DNA duplexes and triplexes based on purines derived from inosine», en *Nucleic Acids Res*, vol. 29, 2001, pp. 2522-2534.

10. E. Cubero, F. J. Luque y M. Orozco, «Theoretical studies of d(A:T)-based parallel-stranded DNA duplexes», en *J Am Chem Soc*, vol. 123, 2001, pp. 12018-12025.

11. S. A. Harris, E. Gavathiotis, M. S. Searle, M. Orozco y C. A. Laughton, «Co-operativity in drug-DNA recognition: a molecular dynamics study», en *J Am Chem Soc*, vol. 123, 2001, pp. 12658-12663.

12. E. Cubero, A. Aviñó, B. G. de la Torre, M. Frieden, R. Eritja, F. J. Luque, C. González y M. Orozco, «Hoogsteen-based parallel-stranded duplexes of DNA. The effect of 8-amino derivatives», en *J Am Chem Soc*, vol. 124, 2002, pp. 3133-3142.

13. N. Escaja, E. Pedroso, J. L. Gelpí, M. Orozco, M. Rico y C. González, «A four-stranded DNA structure stabilized by a novel G:C:A:T tetrad», en *J Am Chem Soc*, vol. 125, 2003, pp. 5654-5662.

14. E. Cubero, N. Abrescia, J. A. Subirana, F. J. Luque y M. Orozco, «Theoretical study of a new structure of DNA: The antiparallel Hoogsteen duplex», en *J Am Chem Soc*, vol. 125, 2003, pp. 14603-14612.

15. C. Ferrer-Costa, J. L. Gelpí, L. Zamakola, I. Parrága, X. de la Cruz y M. Orozco. «PMUT: A Web-based tool for the annotation of pathological mutations on proteins», en *Bioinformatics*, vol. 21, 2005, pp. 3176-3178.

16. C. Ferrer, M. Orozco y X. de la Cruz, «Characterization of disease-associated single aminoacid polymorphisms: A first step towards understanding the molecular basis of disease», en *J Mol Biol*, vol. 315, 2002, pp. 771-786.

17. M. Orozco, «A theoretical view to protein dynamics», en *Chem Soc Rev*, vol. 43, 2014, pp. 5051-5066.

18. A. Pérez, F. J. Luque y M. Orozco, «Frontiers in molecular dynamics simulations of DNA», en *Acc Chem Res*, vol. 45, 2012, pp. 196-205.

19. A. Pérez, I. Marchán, D. Svozil, J. Sponer, T. E. Cheatham, C. A. Laughton y M. Orozco, «Refinement of the AMBER force-field for nucleic acid simulations. Improving the representation of α/γ conformations», en *Biophysical Journal*, vol. 92, 2007, pp. 3817-3829.

20. G. Portella y M. Orozco, «Multiple routes characterize the folding of a small DNA hairpin», en *Angew Chem Int Ed*, vol. 49, 2010, pp. 7673-7676.

21. A. Pérez y M. Orozco, «Real time atomistic description of DNA unfolding», en *Angew Chem Int Ed*, vol. 49, 2010, pp. 4805-4808.

22. J. R. Goñi, A. Pérez, D. Torrents y M. Orozco, «Studying the role of DNA physical properties on gene regulatory mechanisms in vertebrates», en *Genome Biol*, vol. 8, 2007, R263.

23. E. Durán, S. Djebali, S. González, O. Flores, J. M. Mercader, R. Guigó, D. Torrents, M. Soler-López y M. Orozco, «Unraveling of the hidden DNA structural/physical code provides novel insights on promoter location», en *Nucleic Acids Res*, vol. 41, 2013, pp. 7220-7230.

24. A. Cuervo, P. Dans, J. L. Carrascosa, M. Orozco, G. Gomilla y L. Fumagali, «Direct measurement of the dielectric polarization properties of DNA», en *PNAS*, vol. 111, 2014, E3624-3630.

25. A. Arcella, J. Dreyer, E. Ippoliti, I. Ivani, G. Portella, V. Gabelica, P. Carloni y M. Orozco, «Structure and dynamics of oligonucleotides in the gas phase», en *Angew Chem Int Ed Engl*, 2014, en prensa.

26. A. Arcella, G. Portella, M. L. Ruiz, R. Eritja, M. Vilaseca y M. Orozco, «The structure of triplex DNA in the gas phase», en *J Am Chem Soc*, vol. 134, 2012, pp. 6596-6606.

27. N. Martín-Pintado, M. Yahuee-Anzahaee, G. F. Deleavey, G. Portella, M. Orozco, M. J. Damha y C. González, «Dramatic effect of fluorination on topology and stability: Changing the solution structure of the human telomeric quadruplex by a single fluorine atom», en *J Am Chem Soc*, vol. 135, 2013, pp. 5344-5347.

28. N. Martín-Pintado, G. F. Deleavey, G. Portella, R. Campos-Olivas, M. Orozco, M. J. Damha y C. González, «Backbone GC-H…O hydrogen bonds in 2'F-substituted nucleic acids», en *Angew Chem Int Ed*, vol. 125, 2013, pp. 12287-12290.

29. G. Portella, M. W. Germann, N. V. Hud y M. Orozco, «MD and NMR analysis of choline and TMA binding to duplex DNA: On the origins of aberrant sequence-dependent stability by alkyl cations in aqueous and water-free solvents», en *J Am Chem Soc*, vol. 136, 2014, pp. 3075-3086.

30. R. Molina, S. Stella, P. Redondo, H. Gómez, M. J. Marcaida, M. Orozco, J. Prieto y G. Montoya, «Disecting I-Dmol endonuclease catalysis "live"», en *Nat Struct Mol Biol*, vol. 22, 2015, pp. 65-72.

31. M. Candotti, S. Esteban-Martín, X. Salvatella y M. Orozco, «Towards an atomistic description of the urea-denatured state of proteins», en *PNAS*, vol. 110, 2013, pp. 5933-5938.

32. R. B. Fenwick, L. Orellana, S. Esteban, M. Orozco y X. Salvatella, «Correlated motions in β-sheets are an inherent property of proteins», en *Nat Commun*, 2014, DOI: 10. 1038/ncomms5070.

33. L. Kowalczyk, M. Ratera, A. Paladino, P. Bartoccioni, E. Errasti, E. Valencia, G. Portella, S. Bial, A. Zorzano, I. Fita, M. Orozco, X. Carpena, J. L. Vázquez-Ibar y M. Palacín, «Molecular basis of substrate-incuded permeation by an aminoacid antiporter», en *PNAS*, vol. 108, 2011, pp. 3935-3940.

ÁNGEL CARRACEDO

PESCANDO GENES DE AQUÍ PARA ALLÁ

16

Nunca supe de dónde había salido, pero en la biblioteca de mi casa, sin duda entonces la que tenía más libros del pequeño pueblo de Santa Comba, había un ejemplar de la *Biología* de Salustio Alvarado. Me apasionó leer la parte de genética. No lo entendí todo, pero sí entendí que estaba ahí la clave de por qué de un piñón nacía un pino y de un guisante una planta diferente. Me fascinó ya entonces. Tenía doce años, y en esos eternos inviernos de la tierra de Xallas, leer libros y jugar con mis hermanos a memorizar textos o a «Enriquezca su vocabulario» (una sección que venía en las *Selecciones del Reader's Digest* que recibían mis padres) eran parte de las actividades cotidianas.

Mi infancia y adolescencia transcurrieron felices en Santa Comba. Estudiábamos en casa, pero tuve la fortuna de que en esa época se creó una academia (la Academia de Quintela) donde podíamos estudiar, si bien los niños nos teníamos que examinar de todas las materias «por libre» al llegar el mes de junio, en Santiago, en solo uno o dos días y en castellano. Pero aquí tuve también la suerte, que no tenía la mayoría de los niños de mi pueblo, de que, aunque toda mi familia paterna era de Santa Comba, mi madre era de Valladolid, y en mi casa, como sucede también ahora, el bilingüismo se entendía de una forma natural.

No eran fáciles esos exámenes. A veces nos preguntaban cosas que no habíamos visto ni en la academia ni en casa, y las notas que sacábamos mis hermanos y yo no siempre eran buenas. Si bien recuerdo que, además de estar arropados por mis padres esos días, mi madre siempre me decía que las notas no le importaban, pero sí mi esfuerzo, y que yo ya lo había hecho con creces.

En los últimos años de bachillerato mis padres decidieron que debíamos ir al Colegio Peleteiro en Santiago, y aunque el paso a la ciudad no era fácil para un niño del mundo rural gallego, la adaptación al colegio sí lo fue, y en un par de años ya era el mejor de la clase y, sobre todo, tenía muy buenos amigos. Como me decía mi hijo Guille, un excelente estudiante: «Lo difícil no es tener muy buenas notas, sino, teniendo buenas notas, mantener la reputación», lo que es indicativo de las malas dinámicas socioeducativas que a veces se crean.

No sé por qué elegí Medicina. Me gustaba mucho la genética, y entre que el profesor de Biología del colegio era médico y me encantaba, que mi abuelo materno también lo era y que desde pequeño había dicho que yo también lo sería, no lo pensé demasiado, pero por supuesto no oí una palabra de genética en toda la carrera, del mismo modo que, de manera increíble, tampoco actualmente existe ninguna asignatura de Genética o Medicina Genómica troncal en la carrera en nuestra Facultad de Medicina.

Nuestra promoción fue la del primer MIR, pero para mi sorpresa no había especialidad de Genética, a pesar de que yo veía que en todo el mundo existía. Habría tenido que esperar

bastante porque a día de hoy se acaba de aprobar y no será realidad hasta dentro de unos años.

No fui a buscar plaza después del examen. No sabía qué hacer. Incluso pensé dedicarme a la pesca —lo hacía y todavía lo hago bien— o hacerme farero, idea de una gran amiga de entonces y que siguieron todos mis hermanos, que son actualmente fareros en las islas de Ons y Sálvora.

En cambio fui a hablar con el profesor de Medicina Legal Luis Concheiro. Había sido un profesor que me había trasmitido entusiasmo por lo que hacía. Era también uno de los mejores patólogos forenses europeos y, con seguridad, el mejor de este país.

En esa primera entrevista me explicó que para él la Medicina Legal no existía como especialidad única, que él era patólogo, que acababa de contratar a un químico y que justo estaba buscando a alguien para desarrollar la parte de genética que entonces se denominaba Biología Forense. Me convenció y pedí una beca de Formación de Personal Investigador (FPI) que me concedieron y empecé a trabajar en el Departamento de Medicina Legal. Era el mes de octubre del año 1978.

Ahí comenzó mi época *medicolegal*. Aunque no me entusiasmaba especialmente, asistía a las autopsias que el profesor Concheiro realizaba magistralmente, aprendía con él histopatología y, sobre todo, disfrutaba de las visitas que le hacían, entre otros, un profesor de Derecho Penal, Agustín Fernández-Albor, y un profesor de Psiquiatría, Antonio López. Me pareció que debía estudiar Derecho, y ese curso hice primero y me interesó especialmente Derecho Romano. No lo seguí estudiando por lo que voy a contar y por el convencimiento de que solo me interesaba el Derecho Penal, y eso lo podía estudiar por mi cuenta y discutir mis dudas con gente que sabía mucho y a la que tenía acceso, como el propio Fernández-Albor.

Pero mi ilusión era desarrollar la parte de genética forense y a ello me puse. La genética forense consiste en el estudio de la variación humana para resolver problemas judiciales, como conflictos de filiación (pruebas de parentesco) y análisis de muestras biológicas de interés criminal, como manchas de sangre, de esperma, saliva o pelos y cabellos. En aquel entonces, estos problemas se resolvían mediante grupos sanguíneos que, si bien podían ayudar en pruebas sencillas de paternidad, su utilidad en casos criminales era muy limitada. Se necesitaba mucha cantidad de muestra y que esta fuese muy fresca, condiciones que no se dan en la mayoría de los casos forenses.

Yo nunca había visto un laboratorio, pero me ayudaron mucho en mis primeros pasos una analista clínica, Teresa Mora, y un hematólogo, Juan de la Cámara.

Además de los HLA que se acababan de descubrir, yo leía en las revistas y libros a los que tenía acceso —que eran casi todos, porque el profesor Concheiro tenía, y tiene, obsesión por estar al día en su materia— que todo el mundo estaba comenzando a utilizar polimorfismos en enzimas eritrocitarias y proteínas séricas que separaban mediante electroforesis, una técnica de la que solo conocía la teoría.

Creo que conocí a José Luis Blázquez preguntando en la Facultad de Biología cómo se hacía una electroforesis y me encontré con que tenía exactamente mis mismos objetivos. Iba a hacer la tesis en el Departamento de Antropología y, para estudiar la dinámica de las poblaciones humanas, este tipo de polimorfismos era también la novedad.

Decidimos unir esfuerzos y no solaparnos. Uno podía hacer la tesis sobre proteínas séricas y otro —me tocó a mí— sobre enzimas eritrocitarias y leucocitarias y compartir el diseño del estudio y el muestreo. Fue una época muy divertida en la que viajamos por toda Galicia recogiendo muestras de sangre, en los colegios, en las asociaciones de vecinos o incluso en los bares y en las facultades cuyos estudiantes, sobre todo en Medicina, y, entre ellos, las que ahora son mi mujer y mi cuñada, nos dieron muestras masivamente. Ahí empezó otra historia de la que no voy a hablar, pero que representa la parte más feliz de mi vida.

Hacíamos nosotros mismos las cubetas de electroforesis, y con un alambique y un hornillo destilábamos el agua; eso y una fuente de alimentación hecha por un amigo electricista era toda la infraestructura de la que disponíamos.

Daba tiempo a todo, a dar clases pero a la vez ser uno más de los alumnos, a asistir a las autopsias, a aprender derecho y a leer mucho; pero también tenía tiempo para mis aficiones.

Sin embargo, las técnicas electroforéticas sufrieron una revolución con la aparición de la focalización isoeléctrica que permitía separar isoformas de proteínas de forma mucho más precisa por sus puntos isoeléctricos y posibilitaba aumentar en buena medida el número de marcadores polimórficos. Sí que conseguí montarla por mi cuenta, pero justo leyendo la revista *Electrophoresis* y, pensando que necesitaba unas bases teóricas mejores en fisicoquímica y genética, vi anunciado un máster de Técnicas de Separación Bioquímica y Genética en el Biomedical Center (BMC) de la Universidad de Upsala. Elegían a tres estudiantes escandinavos y tres del resto del mundo, y tuve la suerte de ser elegido. Era un sueño: allí Tiselius había descubierto la electroforesis; Svedberg, la ultracentrifugación; y Svensson, la focalización isoeléctrica. Pero era un sueño caro. La matrícula y la estancia costaban más de lo que me permitía la beca FPI que disfrutaba.

Tuve entonces la ocurrencia de escribir a don Joaquín Arias, entonces director del Banco Pastor y la Fundación Barrié.

Mi padre era —y lo fue hasta su jubilación— un empleado del Banco Pastor en la sucursal de Santa Comba, donde trabajó toda su vida, y nosotros habíamos disfrutado de becas de ayuda a los estudios de la Fundación Barrié como hijos de los empleados.

Yo le expliqué a don Joaquín mi situación y mis ilusiones en una carta, y me contestó a vuelta de correo que me había abierto una cuenta corriente en el banco para que cumpliera mis sueños sin problemas. Creo que, al darse cuenta de que habría otras personas en mi situación, impulsó desde la Fundación Barrié su programa de becas que tanto bien hizo a la investigación en Galicia. Desde entonces considero siempre esta fundación —de la que hoy formo parte de su patronato— como mi casa.

Dos fundaciones ligadas a bancos, la Fundación Barrié y la Fundación Botín, tuvieron una gran importancia en mi vida científica, por su apoyo económico y personal la primera, y la segunda por cambiarme los conceptos de traslación de la actividad científica y hacerme ver la importancia de la protección de la propiedad intelectual.

Antes de ir a Upsala acabé la parte experimental de la tesis y, entonces sí, me fui. Era todo nuevo y excitante. La diferencia entre el pequeño laboratorio de Medicina Legal y el BMC era como la que hay entre la noche y el día. Aprendí numerosas técnicas de separación bioquímica y mucha fisicoquímica teórica. Era impresionante ver el primer sistema de electroforesis de Tiselius y cómo se cuidaban todos los descubrimientos históricos que se habían hecho en el centro. Hacía poco que Sanger había descubierto su técnica de secuenciación, y pude hacer allí ya mi primera secuencia de ADN. Me encantó especialmente trabajar en el desarrollo teórico de la electroforesis capilar, y recuerdo todas y cada una de mis experiencias dentro y fuera del centro.

En los ratos libres iba analizando los datos de la tesis y mandando los folios manuscritos al profesor Concheiro, que se los dictaba a su secretaria Adelaida para que los mecanografiase. Mi hermano Jesús hizo la iconografía y, a mi vuelta, tenía la tesis lista. Era junio de 1982.

Ese mismo año publiqué cuatro artículos de mi tesis en las mejores revistas de medicina legal.[1-4] A diferencia de otras disciplinas, esta no tenía una tradición de publicar de manera internacional, y fueron las primeras publicaciones en lengua inglesa de la medicina legal española.

Comenzamos a publicar de forma regular y un par de métodos innovadores, la tinción con sales de plata de Cajal para teñir proteínas después de separarlas por isoelectroenfoque[5] y el análisis de queratinas [6] (los pelos eran muy difíciles de identificar),nos permitieron tener una cierta resonancia internacional y recibir los primeros casos forenses del extranjero (un tráfico ilegal de animales en Estados Unidos).

Empezábamos a ser conocidos internacionalmente y a ser competitivos cuando de repente todo nuestro campo cambió. Alec Jeffreys y su equipo habían descubierto la huella genética, polimorfismos hipervariables en el ADN[7] que suponían una auténtica revolución y un cambio radical de paradigma y de metodología. Afortunadamente, en el Departamento de Fisiología, Fernando Domínguez, que acababa de llegar de Estados Unidos, sabía trabajar con ADN y con sondas y no nos costó implementarlo y adaptarnos a los nuevos conceptos.

El primer caso en el que se hizo en España una prueba de ADN fue en la Audiencia de A Coruña, en 1989, y permitió liberar a una persona erróneamente acusada de una violación; esto no fue mucho tiempo después de los primeros casos realizados por Peter Gill, un científico al que siempre me unió una gran amistad.

El descubrimiento de la PCR por Kary Mullis[8] y de los microsatélites[9] poco tiempo después volvió a producir una revolución en nuestro campo. Fueron años de despegue de la inves-

tigación en el grupo, con el hallazgo y validación forense de muchos de los microsatélites que se utilizan hoy en todos los laboratorios forenses del mundo.

La puesta a punto de nuevas metodologías era constante, y adquirimos el primer secuenciador automático que hubo en España, que no sé cómo me atreví a comprarlo sin tener dinero para ello. Tardé cinco o seis años en pagarlo y nos permitió ser punteros también en el análisis de ADN mitocondrial (esencial para muestras degradadas y cabellos). Así, los primeros casos en los que los resultados del análisis de ADNmt fueron llevados a los tribunales fueron el de P. W. Ware, en Estados Unidos, en junio de 1996, realizado por el FBI a raíz de un caso de violación y posterior asesinato en el estado de Tennessee, y, simultáneamente, otro caso criminal resuelto por nuestro laboratorio, el del Sumario 2/95, Juzgado de Primera Instancia e Instrucción de Puente Genil, en Córdoba, informe del Instituto de Medicina Legal de Santiago 23/1996.

El ADN mitocondrial supuso un vuelco también para la genética de poblaciones al permitir hacer filogeografía y poder entender mejor los movimientos de las poblaciones. La genética forense es en cierto modo una rama aplicada de la genética de poblaciones humanas, y la investigación en este campo es una línea complementaria natural que afianzamos con la incorporación al grupo de Antonio Salas, que pronto llegó a ser una auténtica figura en el campo.

Paralelamente, fueron años de avance en las estructuras organizativas en este ámbito, lo que yo llevé a cabo con la creación, dentro de la International Society for Forensic Genetics (ISFG), del grupo español y portugués (GHEP-ISFG). Poco tiempo después me convertí en director de los grupos de trabajo de la ISFG y, finalmente, en presidente de esa misma sociedad en la que impulsé la estandarización (a través de la creación de la DNA Commission) y los controles de calidad (los del GHEP son modélicos), contribuyendo de forma decisiva a su internacionalización (hoy prácticamente todos los expertos de todos los países del mundo que trabajan en genética forense son miembros de esta sociedad).

Comencé a dirigir el entonces recientemente creado —y aun así en crisis institucional— Instituto de Medicina Legal, cuya producción científica pasó a ser la mejor del mundo, lo que se mantuvo en el decenio de 2001 a 2011. El grupo ya estaba más consolidado y tenía la fortuna de contar en él con María Victoria Lareu, una de mis primeras discípulas y ahora catedrática de Medicina Legal.

Comenzaron a llegar casos importantes de todo el mundo con mucha repercusión mediática, como los casos de Alcàsser o de la farmacéutica de Olot en España, o el caso Baneheia, en Noruega. La introducción de nuevas técnicas desarrolladas por el grupo, como los SNP e INDEL para material degradado,[10] los SNP en áreas protegidas por nucleosomas[11,12] con las mismas aplicaciones, los AIM para predecir el origen geográfico de muestras[13] o nuevos marcadores para la predicción de caracteres físicos, hizo que fuese aun mayor la demanda por tribunales y policías de muchos países y se realizasen aquí pericias de tanto impacto como el 11-M (el atentado terrorista más importante de la historia del país), la identificación de las víctimas del *tsunami* asiático, el estudio de parentesco de Emmanuel (el hijo de

Clara Rojas, una parlamentaria secuestrada por las FARC), la operación Minstead en Reino Unido (el caso de violación en serie más dramático de la historia) o el caso Bretón, entre otros muchos.

En 2012 dejé la dirección del instituto en manos de María Victoria Lareu, que prosigue con ilusión la aventura de mantenerlo como punta de lanza de la investigación forense en el mundo. Reduje mi actividad en este campo y, actualmente, además de ayudar en la investigación, tengo varios puestos de responsabilidad internacional, como la codirección con mi amigo Peter Schneider (profesor de Medicina Legal de la Universidad de Colonia) de una red de excelencia europea, comisiones de ADN y la dirección de la revista *Forensic Science International: Genetics*, que fundé y que es la de mayor impacto en el área forense.

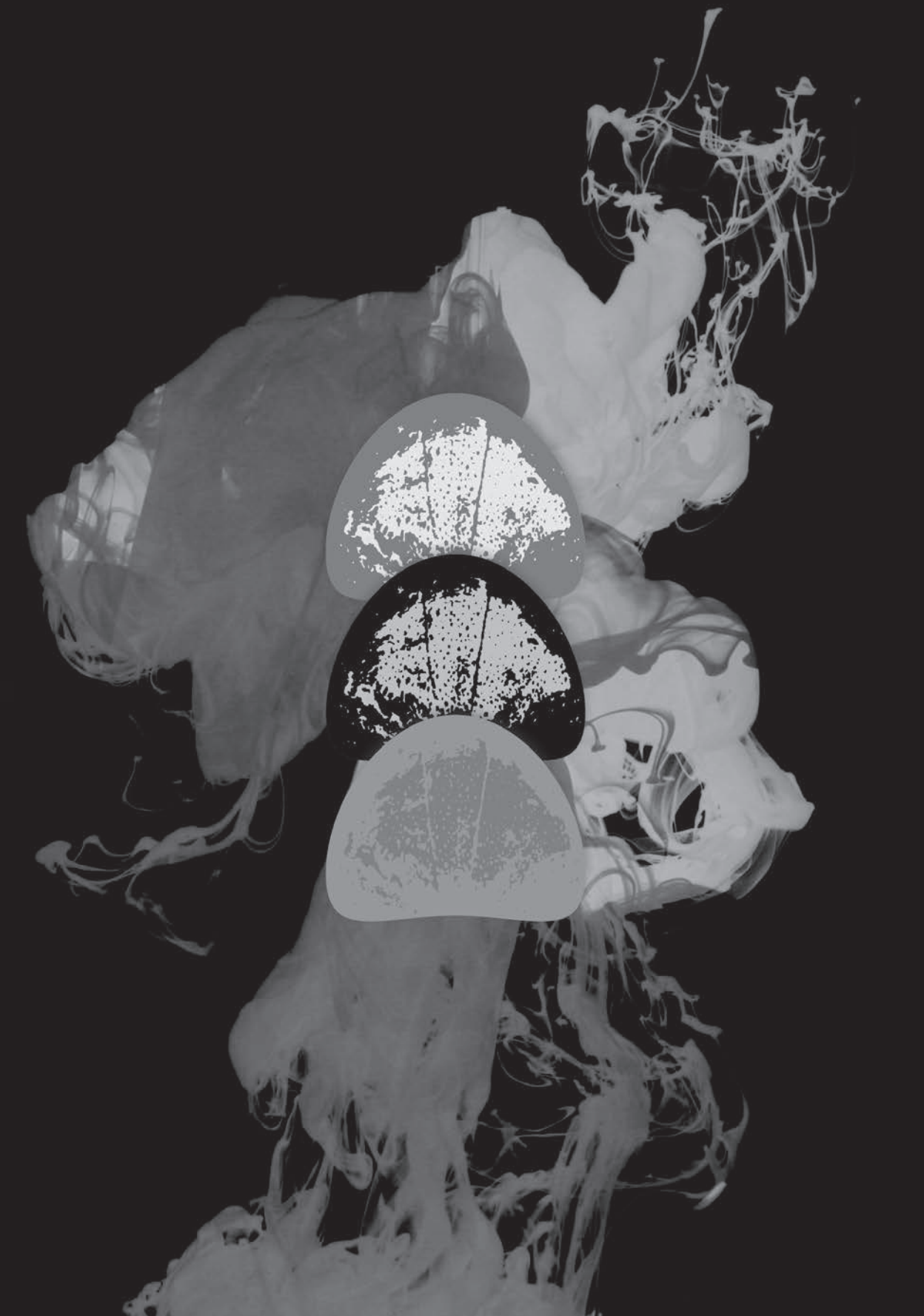
Hace años comencé otra aventura que requería de la mayoría de mis energías. El punto de inflexión fue una serie de ofertas para dirigir institutos de medicina legal europeos que no acepté, algunos casos muy mediáticos, que me resultan insoportables por la presión, y, sobre todo, mi ilusión por desarrollar una idea más amplia de la genética.

Mi pasión desde el principio había sido la genética clínica y nunca la había abandonado, sobre todo buscando con polimorfismos genéticos clásicos el componente genético de enfermedades complejas, pero desde que comenzamos a poder hacer secuenciación de ADN recibíamos cada vez más casos de los hospitales. Con los avances en genómica y los derivados del Proyecto Genoma Humano estaba cambiando rápidamente el espectro de la enfermedad genética identificable. Ya no solo importaban cromosomopatías y citogenética, sino cada vez más el análisis molecular.

Todos los hospitales gallegos querían desarrollar la nueva genómica y nos llamaban para ello. Era importante implantar su desarrollo de forma racional, y mi idea era dar servicio a todos desde una estructura centralizada. Un área en la que se preveían cambios vertiginosos, infraestructuras progresivamente caras y muy cambiantes y una diversidad de conocimientos interdisciplinarios no se podía dispersar en hospitales y servicios como ocurría en el resto del país.

Fernando Domínguez me acompañó siempre en el desarrollo de esta idea y contamos con la ayuda de una de las personas más inteligentes que he conocido, el profesor Manolo Salorio. Aunque era oftalmólogo, acogió nuestra idea dentro de la fundación pública que dirigía, el Instituto Gallego de Oftalmología, que pasó a denominarse Instituto Gallego de Oftalmología y Medicina Molecular y que, al cabo de unos años, volvió a su origen dedicado a la oftalmología exclusivamente, ya que se creó la Fundación Pública Gallega de Medicina Genómica. La genética clínica había dado el salto a la medicina genómica: ya no era solo poder analizar lo que afecta a línea germinal, sino todo lo que tenía que ver con el componente genético de la enfermedad compleja.

El desarrollo de esta nueva estructura fue ya imparable. Personas que estaban en nuestras áreas de Medicina Legal y Fisiología se incorporaron a esta, y Francisco Barros (que fue uno de mis primeros doctorandos y mi mano derecha en la parte clínica), Lourdes Loidi, Ana



Vega, Clara Ruiz-Ponte y Celsa Quinteiro fueron el núcleo original desde el que se desarrolló un grupo de más de cincuenta personas con una enorme actividad dentro de la genómica clínica. Posteriormente incorporamos a Luz Míguez y a Manuela Ariza para citogenética y a Teresa González para oncohematología.

Pero siempre me pareció que era imposible una actividad clínica de excelencia sin una investigación también de excelencia. Y ligada a la actividad clínica comenzamos a hacer investigación en el área del cáncer, particularmente genética de cáncer de mama y colorrectal, que eran campos de creciente actividad asistencial, y en enfermedades raras, pero fuimos poco a poco especializándonos en buscar el componente genético de la enfermedad compleja, y aquí un hito decisivo fue la creación del Centro Nacional de Genotipado (CEGEN). Llevaba ya un tiempo colaborando con mi amigo Xavier Estivill en genética de enfermedades psiquiátricas y con Javier Benítez en genética del cáncer, y juntos lo aplicamos a un concurso para la implementación del CEGEN que conseguimos y desarrollamos. Actualmente soy el coordinador de esta estructura, que tiene dos nodos: uno en el CNIO y otro en nuestro grupo (con dos plataformas coordinadas por María Torres e Inés Quintela), y donde prestamos servicios de análisis y apoyo a todos los grupos o consorcios que quieran realizar análisis de SNP, normalmente a una cierta escala. Particularmente, los análisis de SNP de todo el genoma, denominados GWAS, revolucionaron el conocimiento del componente genético de la enfermedad común.

Se vio que era necesario hacer grandes consorcios clínicos y con un gran número de muestras para lograr capturar ese componente y así abrir nuevas vías para entender la enfermedad.

Esta capacidad de genotipado y de análisis vino complementada por la incorporación de muy buenos investigadores a nuestro grupo. Así, en poco tiempo, a los grupos de genética de cáncer (dirigidos por Ana Vega y Clara Ruiz), se añadieron un grupo de neurogenética, a cargo de María Jesús Sobrido; otro de genética de enfermedades psiquiátricas, a cargo de Xabi Costas; otro de enfermedades cardiovasculares, bajo la dirección de María Brión; uno de genética de parásitos, a cargo de Xulio Maside, y otro de epidemiología genética en cáncer, dirigido por Manuela Gago. Coordinando la actividad de investigación en farmacogenómica (muy importante para nosotros por su nivel de traslación a la actividad clínica) se encuentra Francisco Barros.

La creación de un servicio de secuenciación de nueva generación coordinado por Beatriz Sobrino, otro de bioinformática, que lleva Jorge Amigo, y otro de estadística, a cargo de Raquel Cruz, están dando un apoyo y un valor añadido tanto a la parte de investigación como a la asistencial.

En la parte de investigación comenzamos a producir artículos de mucho mayor impacto. Entre los que me parecen más importantes destacaría el descubrimiento de nuevas bases genéticas de la muerte súbita del lactante (SIDS),[14] el descubrimiento en el seno de un consorcio internacional de nuevos genes implicados en la esquizofrenia[15] y el autismo,[16] y los avances en genética de cáncer colorrectal,[17] gracias a otro consorcio, la red EPICOLON, en la que Toni Castells está realizando una labor ejemplar, y sobre todo en farmacogenética, tanto en

cáncer colorrectal (lo que nos está permitiendo hacer tratamientos más personalizados)[18] como en otras áreas donde estamos también descubriendo nuevos biomarcadores como respuesta a tratamientos[19] que tendrán sin duda un gran impacto en la práctica clínica.

La farmacogenómica es un campo al que le estoy prestando una especial atención, pues me parece que hay que trasladarla a la práctica de forma adecuada, y eso implica trabajar en otros aspectos formativos, reguladores y organizativos y no solo en la investigación. En este sentido aprendí, representando a España en la EMA, lo que es un organismo regulador. Fui promotor e impulsé (y la ayuda de mi amiga Montse Baiget fue para ello esencial) la Sociedad Española de Farmacogenética y Farmacogenómica, y actualmente estoy trabajando, apoyado de nuevo por la Fundación Botín, en un proyecto de estructuración en el ámbito hospitalario de medicina personalizada.

Fue esta Fundación la que me abrió los ojos en relación con la necesidad de la trasferencia adecuada de los resultados de investigación, y fruto de ello, además de algunas *spin off*, es la plataforma Innopharma, una *joint venture* de nuestro grupo con el grupo Biopharma que dirige de forma admirable Mabel Loza y que pretende descubrir de manera temprana fármacos con herramientas genómicas.

En este momento me está interesando especialmente la genética de enfermedades psiquiátricas. Su componente genético es elevadísimo, mucho más que en ningún cáncer, pero lo conocemos muy poco. Buscar los genes de enfermedades es como ir de pesca, la cual es una de mis grandes aficiones. En el caso del cáncer, cada vez quedan menos peces por pescar, y los que quedan son muy escurridizos. Sin embargo, en las enfermedades psiquiátricas hay muchísimos, pero no sabemos cómo pescarlos, ni tampoco qué peces son exactamente (pues cuesta mucho definir bien la enfermedad psiquiátrica). Para cualquier pescador que se precie, este reto es muy atractivo.

Pero las afecciones psicológicas y psiquiátricas tienen un problema aún mayor: el estigma. Actualmente le estoy dedicando una especial atención a luchar para que los niños y adolescentes que sufren estos problemas tengan una mejor atención y quería dedicar mis mayores esfuerzos de investigación a ayudar a entender las bases genéticas de trastornos como el TOC y el autismo.

Con los años me doy cuenta de que tan importante como investigar es divulgar. Hacer ciencia es importante, pero tanto o más es contar qué sabemos y dar a conocer tantos y tantos misterios que aún no conseguimos llegar a entender. Esto no solo es esencial para que la gente valore el papel de la ciencia, sino que es sobre todo la única manera de que puedan comprender el mundo que nos rodea y juzgar críticamente lo que se nos dice; o lo que es lo mismo: ser más libres. Por ello, trato de dedicarle el máximo esfuerzo a la divulgación y, prácticamente, cada dos semanas, o bien voy yo mismo a algún instituto a contar lo que hacemos, o bien tenemos colegios de visita en nuestro centro. Y tengo que reconocer que me encanta estar con los niños y que tal vez haya sido la de maestro mi vocación frustrada.

Bibliografía

1. Á. Carracedo y L. Concheiro, «The typing of alfa 1-antitrypsin in human bloodstains by isoelectric focusing», en *Forensic Sci Int*, vol. 19, 1982, pp. 181-184.

2. Á. Carracedo y L. Concheiro, «Polymorphisms of erythrocyte acid phosphatase and adenosindesaminase in Galicia (NW Spain) by AGIF and PAGIF», en *Z Rechtsmed*, vol. 38, 1982, pp. 143-145.

3. Á. Carracedo y L. Concheiro, «PGM1 Subtypes in Galicia (NW Spain)», en *Hum Hered*, vol. 32, 1982, pp. 133-135.

4. Á. Carracedo y L. Concheiro, «Enzyme Polymorphisms in Galicia (NW Spain)», en *Hum Hered*, vol. 33, 1982, pp. 160-162.

5. Á. Carracedo, L. Concheiro, I. Requena y M. López Rivadulla, «A silver staining method for the detection of polymorphic proteins in minute bloodstains after isoelectric focusing», en *Forensic Sci Int*, vol. 23, 1983, pp. 241-248.

6. Á. Carracedo, L. Concheiro y I. Requena, «Species identification of hair by the isoelectric focusing of keratins», en *J. Forensic Sci*, vol. 24, 1984, pp. 422-424.

7. J. Jeffreys y V. Wilson, «Thein SL Hypervariable minisatellite regions in human DNA», en *Nature*, vol. 314, 1985, pp. 67-73.

8. K. Mullis, F. Faloona, «Specific synthesis of DNA in vitro via polymerase-catalyzed chain reaction», en *Methods Enzymol*, Academic Press, Nueva York, 1987, pp. 335-350.

9. D. Tautz, «Hypervariability of simple sequences as a general source for polymorphic DNA markers», en *Nucleic Acid Res*, vol. 17, 1989, pp. 6463-6471.

10. J. J. Sánchez, C. Phillips, C. Børsting, K. Balogh, M. Bogus, M. Fondevila, C. D. Harrison, E. Musgrave-Brown, A. Salas, D. Syndercombe-Court, P. M. Schneider, Á. Carracedo, N. Morling, «A multiplex assay with 52 single nucleotide polymorphisms for human identification», en *Electrophoresis*, vol. 27, n.º 9, 2006 , pp. 1713-1724.

11. C. Phillips, A. Salas, J. J. Sánchez, M. Fondevila, Á. Gómez-Tato, J. Álvarez-Dios, M. Calaza, M. C. de Cal, D. Ballard, M. V. Lareu y Á. Carracedo, «SNPforID Consortium. Inferring ancestral origin using a single multiplex assay of ancestry-informativemarker SNPs», en *Forensic Sci Int Genet*, vol. 1, n.º 3-4, 2007, pp. 273-280.

12. R. Pereira, C. Phillips, C. Alves, A. Amorim, Á. Carracedo y L. Gusmão, «A new multiplex for human identification using insertion/deletion polymorphisms», en *Electrophoresis*, vol. 30, n.º 21, 2009, pp. 3682-3690.

13. A. Freire-Aradas, M. Fondevila, A. K. Kriegel, C. Phillips, P. Gill, L. Prieto, P. M. Schneider, Á. Carracedo y M. V. Lareu, «A new SNP assay for identification of highly degraded human DNA», en *Forensic Sci Int Genet*, vol. 6, n.º 3, 2012, pp. 341-349.

14. M. Brion, C. Allegue, M. Santori, R. Gil, A. Blanco-Verea, C. Haas, C. Bartsch, S. Poster, B. Madea, O. Campuzano, R. Brugada y Á. Carracedo, «Sarcomeric gene mutationsin sudden infant death syndrome (SIDS)», en *Forensic Sci Int*, vol. 219, n.º 1-3, 2012, pp. 278-281.

15. H. Stefansson, R. A. Ophoff, S. Steinberg, O. A. Andreassen, S. Cichon, D. Rujescu, T. Werge, O. P. Pietiläinen, O. Mors, P. B. Mortensen, E. Sigurdsson, O. Gustafsson, M. Nyegaard, A. Tuulio-Henriksson, A. Ingason, T. Hansen, J. Suvisaari, J. Lonnqvist, T. Paunio, A. D. Børglum, A. Hartmann, A. Fink-Jensen, M. Nordentoft, D. Hougaard, B. Norgaard-Pedersen, Y. Böttcher, J. Olesen, R. Breuer, H. J. Möller, I. Giegling, H. B. Rasmussen, S. Timm, M. Mattheisen, I. Bitter, J. M. Réthelyi, B. B. Magnusdottir, T. Sigmundsson, P. Olason, G. Masson, J. R. Gulcher, M. Haraldsson, R. Fossdal, T. E. Thorgeirsson, U. Thorsteinsdottir, M. Ruggeri, S. Tosato, B. Franke, E. Strengman y L. A. Kiemeney; Genetic Risk and Outcome in Psychosis (GROUP), I. Melle, S. Djurovic, L. Abramova, V. Kaleda, J. Sanjuan, R. de Frutos, E. Bramon, E. Vassos, G. Fraser, U. Ettinger, M. Picchioni, N. Walker, T. Toulopoulou, Need AC, D. Ge, J. L. Yoon, K. V. Shianna, N. B. Freimer, R. M. Cantor, R. Murray, A. Kong, V. Golimbet, Á. Carracedo, C. Arango, J. Costas, E. G. Jönsson, L. Terenius, I. Agartz, H. Petursson, M. M. Nöthen, M. Rietschel, P. M. Matthews, P. Muglia, L. Peltonen, D. St. Clair, D. B. Goldstein, K .Stefansson y D. A Collier, «Common variants conferring risk of schizophrenia», en *Nature*, vol. 460, n.º 7.256, 6 de agosto de 2009, pp. 744-747.

16. S. de Rubeis, X. He, A. Goldberg, S. PoKultney, K. Samocha, A. E. Cicek, L. Liu, M. Fromer, J. Brownfeld, J. Cai, N. Campbell, Á. Carracedo, M. Chahrour, A. G. Chiocchetti, H. Coon, E. Crawford, L. Lucy Crooks, R. Sarah, M. Parellada, J. Parr, S. Purcell, K. Puura, D. Rajagopalan, K. Rehnstr, A. Reichenberg, A. Sabo, M. Sachse, S. Sanders y C. Schafer; The DDD Study, Homozygosity Mapping Collaborative for Autism, UK10K Consortium, The Autism Sequencing Consortium, A. Palotie, G. Schellenberg, P. Sklar, M. State, J. Sutcliffe, C. Walsh, S. Scherer, M. Zwick, J. Barrett, D. Cutler, K. Roeder, B. Devlin, M. J. Daly y J. Buxbaum, «Synaptic, transcriptional and chromatin genes disrupted in autism», en *Nature*, 29 de octubre de 2014. DOI: 10.1038.

17. P. Tomlinson, E. Webb, L. Carvajal-Carmona, P. Broderick, K. Howarth, A. M Pittman, S. Spain, S. Lubbe, A. Walther, K. Sullivan, E. Jaeger, S. Fielding, A. Rowan, J. Vijayakrishnan, E. Domingo, I. Chandler, Z. Kemp, M. Qureshi, S. M. Farrington, A. Tenesa, J. G. Prendergast, R. A. Barnetson, S. Penegar, E. Barclay, W. Wood, L. Martin, M. Gorman, H. Thomas, J. Peto, D. T. Bishop, R. Gray, E. R. Maher, A. Lucassen, D. Kerr, D. G. Evans; CORGI Consortium, C. Schafmayer, S. Buch, H. Völzke, J. Hampe, S. Schreiber, U. John, T. Koessler, P. Pharoah, T. van Wezel, H. Morreau, J. T. Wijnen, J. L. Hopper, M. C. Southey, G. G. Giles, G. Severi, S. Castellví-Bel, C. Ruiz-Ponte, Á. Carracedo y A. Castells; EPICOLON Consortium, A. Försti, K. Hemminki, P. Vodicka, A. Naccarati, L. Lipton, W. Hoj, K. K. Cheng, P. C. Sham, J. Luk, J. A. Agúndez, J. M. Ladero, M. de la Hoya, T. Caldés, I. Niittymäki, S. Tuupanen, A. Karhu, L. Aaltonen, J. B. Cazier, H. Campbell, M. G. Dunlop y R. S. Houlston, «A genome-wide association study identifies colorectal cancersusceptibility loci on chromosomes 10p14 and 8q23.3», en *Nat Genet*, vol. 40, n.º 5, 2008, pp. 623-630.

18. C. Fernández-Rozadilla, J. B. Cazier, V. Moreno, M. Crous-Bou, E. Guinó, G. Durán, M. J. Lamas, R. López, S. Candamio, E. Gallardo, L. Paré, M. Baiget, D. Páez, L. A. López-Fernández, L. Cortejoso, M. I. García, L. Bujanda, D. González, V. Gonzalo, L. Rodrigo, J. M. Reñé, R. Jover, A. Brea-Fernández, M. Andreu, X. Bessa, X. Llor, R. Xicola, C. Palles, I. Tomlinson, S. Castellví-Bel, A. Castells, C. Ruiz-Ponte y Á. Carracedo, «Pharmacogenomics in colorectal cancer: a genome-wide association study to predict toxicity after 5-fluorouracil or FOLFOX administration», en *Pharmacogenomics J*, vol. 13, n.º 3, 2013, pp. 209-217.

19. L. Fachal, A. Gómez-Caamaño, G. C. Barnett, P. Peleteiro, A. M. Carballo, P. Calvo-Crespo, S. L. Kerns, M. Sánchez-García, R. Lobato-Busto, L. Dorling, R. M. Elliott, D. P. Dearnaley, M. R. Sydes, E. Hall, N. G. Burnet, Á. Carracedo, B. S. Rosenstein, C. M. West, A. M. Dunning y A. Vega, «A three-stage genome-wide association study identifies a susceptibility locus for late radiotherapy toxicity at 2q24.1», en *Nat Genet*, vol. 6, n.º 8, 2014, pp. 891-894.

FRANCESC POSAS

UNA MIRADA AL PASADO CON VISTAS AL FUTURO

17

No es una tarea fácil reflexionar sobre aquellos elementos que han marcado de manera clara una trayectoria científica y los acontecimientos que han dirigido nuestros pasos hacia la investigación. El marco de la memoria de la Fundación Botín nos brinda una excusa excelente para hacer un repaso de esas vivencias pasadas y de cómo estas han podido impactar en el desarrollo de nuestros respectivos grupos de investigación, así como de nuestra visión sobre la ciencia y la transferencia del conocimiento generada por ellas. En esta apuesta por el futuro y por la transferencia de los resultados de la investigación a la sociedad es donde la Fundación Botín ha tenido, y está teniendo, un papel clave, al que me referiré más adelante, ya que al principio yo mismo tuve una visión muy particular de lo que era dedicarse a la ciencia. Ahora sé que nuestra responsabilidad como científicos va más allá de la mera generación del conocimiento.

Al comienzo todo eran cohetes

No sabría precisar qué, de mi ambiente familiar, marcó mi juventud y mi formación como científico, pero tengo claro que tuvo un gran impacto.

Nací en un pueblo no muy lejano a la ciudad de Barcelona donde mis padres regentaban un negocio familiar que incluía una granja de animales. Desde muy pequeño trabajé con ellos los fines de semana y todas las «vacaciones de verano». No es que me hiciese muy feliz, pero asumí rápidamente que eso era lo que «tocaba» hacer. La dedicación al trabajo y el esfuerzo por sacar adelante el negocio marcaron mi manera de afrontar los estudios y la investigación. Siempre he visto con tremenda claridad que si uno quiere conseguir algo ha de estar dispuesto a luchar por ello, trabajar mucho y esforzarse hasta lograrlo. Creo que esta idea ha marcado el resto de mi carrera como científico. También hay que decir que mis padres siempre han sido muy generosos conmigo y que me han apoyado en todo lo que me he propuesto hacer; incluso en aquello que no entendían, como por ejemplo no seguir con el negocio familiar para dedicarme a unos estudios que no sabían ciertamente para qué me iban a servir.

Cuando aún era un chaval, tenía la idea de dedicarme o bien a la veterinaria o bien a la economía para poder mejorar el negocio de mis padres y su explotación. Sin embargo, en estos planes no contaba con lo que iba a suceder más adelante, cuando un profesor me abrió los ojos al fascinante mundo de la biología; pero eso fue un poco más tarde. Durante esos años de primaria, tuve la suerte de que en la escuela de nuestro pueblo había un grupo entusiasta de profesores, y fue a partir de entonces cuando el estudio y la comprensión de las cosas empezaron a interesarme y a coger forma en mí.

Cuando tenía unos once o doce años ocurrieron unos hechos que ilustran nítidamente algunos de los trazos de mi mentalidad investigadora, así como mi dedicación a aprender e investigar aquellas cuestiones que me atraían. Como cualquier chaval, tenía una gran fascinación por los cohetes y los petardos, así que decidí que tenía que construir cohetes capaces de alcanzar gran altura. Esto me condujo, con un compañero de clase, a empezar a estudiar qué era la pólvora y su composición. El siguiente paso consistió en experimentar, y entonces empezamos a elaborar nuestra propia pólvora, al principio con materiales de bajo coste y después con elementos más puros comprados en la farmacia, no sin ciertas suspicacias por parte del farmacéutico. Ya en ese momento anotábamos en una libreta la velocidad a la que se consumía cada mezcla, la rapidez a la que se encendía, la intensidad de la llama y, cómo no, todas las mejoras y añadiduras que hacíamos en los cohetes para lanzarlos. Todo progresaba estupendamente y los cohetes alcanzaban cada vez más altura, lo que nos forzó a cambiar sus envoltorios y la presión con que comprimíamos el material combustible. Hasta que un día estalló uno de ellos mientras lo empaquetábamos y casi perdí la mano. Por suerte solo fueron unas quemaduras, unos cuantos puntos de sutura y un par de semanas sin oír muy bien, eso fue todo. Un mal menor, teniendo en cuenta que estábamos manipulando los cohetes al lado de una docena de bombonas de butano. Para mí, lo malo fue el veto a usar en lo sucesivo materiales inflamables y, mucho peor aun, la desaparición de la libreta que contenía los resultados con todos los «experimentos». Así que mi carrera como posible ingeniero de cohetes quedó en suspenso. En cualquier caso, esta experiencia me sirvió para aprender a investigar aquellas cosas que nos interesan y a ser sistemático en su estudio. A partir de ahí, siempre he dado un gran valor a las libretas de laboratorio.

El interés por la biología

Como seguramente le haya pasado a mucha gente, hay profesores que marcan trayectorias. Los posibles estudios universitarios que tenía en la cabeza cambiaron de manera clara durante mis estudios de bachillerato. En esos años se acababan de crear los primeros ratón y planta transgénicos, la primera vacuna usando ingeniería genética, la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la propuesta de la secuenciación del genoma humano. Era un momento fascinante, de explosión en muchos campos de la biología. El profesor de Ciencias Naturales (biología y otras materias) que tuve durante dos años fue capaz de transmitir no solo el interés por el conocimiento, sino también la fascinación que tenía por la biología, introduciendo contenidos de rabiosa actualidad. Nos comentaba noticias que acababan de ver la luz, aspectos que aún no estaban en los libros. Gracias a ese entusiasmo y a la pasión por conocer, a partir de ese momento tuve muy claro lo que quería hacer: investigar el funcionamiento de las células.

Así es como llegué a la Facultad de Biología de la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB). Escogí la UAB y no la Universidad de Barcelona (UB) por una razón práctica. Al final del bachillerato fui de oyente a unas cuantas clases en la UB y, cuando vi que en primero de Biología había un número casi infinito de estudiantes, decidí que prefería ir a una universidad con un número mucho más reducido de alumnos y un campus más abierto. En ese momento no supe lo acertada que fue mi decisión, pero por motivos diferentes a los que yo me podía imaginar.

En el primer curso las asignaturas eran muy básicas y quizá poco atractivas. Aun así, me presenté de voluntario con otros estudiantes a una empresa que diseñaba fermentadores a gran escala para el tratamiento de residuos. Allí empecé a realizar mis primeros ensayos químicos y bacteriológicos. Lo que más me fascinó fue la complejidad biológica de los fermentadores y la dificultad para mantenerlos activos. Las relaciones entre las diferentes poblaciones de bacterias y su evolución es un tema que siempre me ha entusiasmado. Durante el segundo curso, y debido a la experiencia previa, me presenté en el laboratorio de microbiología de la recién fundada Facultad de Veterinaria de la UAB. Todavía no entiendo muy bien cómo la responsable, la doctora M. A. Calvo, se atrevió a confiar en un estudiante de segundo; y la verdad es que todo el grupo me acogió fantásticamente. Allí aprendí a hacer crecer bacterias y hongos y a clasificarlos, así como a evaluar su sensibilidad a los antibióticos. Esto me abrió los ojos a la investigación en un laboratorio y al ámbito de la microbiología como tal.

Sin embargo, la gran oportunidad apareció acabando el segundo curso, cuando en la Unidad de Bioquímica de la facultad buscaban estudiantes para colaborar en un laboratorio. En esos momentos, la Unidad de Bioquímica gozaba de un gran impulso y unos estándares fuera de lo habitual, con investigadores recién llegados de Estados Unidos. Estaba liderada por el doctor Joan J. Guinovart, actualmente director del Institut de Recerca Biomèdica de Barcelona (IRB). Fue entonces cuando volvió el doctor Joaquín Ariño de su estancia posdoctoral en Estados Unidos, donde identificó nuevas proteínas fosfatasas mediante técnicas de biología molecular, algo absolutamente novedoso en aquellos años. Así fue cómo Joaquín implementó técnicas punteras de biología molecular en un departamento que estudiaba metabolismo celular. Con él aprendí a secuenciar ADN, las técnicas básicas de biología molecular y hasta llegamos a tener uno de los primeros PCR y máquinas de síntesis de oligonucleótidos. Cuando finalicé ese curso ya tenía una idea clara de lo que quería estudiar: me dedicaría a la Bioquímica y Biología Molecular. Durante esos años compaginé los estudios con el trabajo de laboratorio. Pasaba todas las tardes en el laboratorio y también durante el verano. La gente me trató magníficamente. De allí surgieron algunos de mis mejores compañeros, y no solo me sirvió para aprender y empezar a formarme como investigador, sino también para tener una motivación adicional para asistir a las clases de la licenciatura, que no siempre eran todo lo estimulantes que deberían ser. Al acabar mi último año de carrera ya tenía decidido que iba a continuar en el mundo de la investigación y puse todo mi empeño en ello.

Las fosfatasas y el metabolismo celular

Durante los años sesenta se descubrieron y se definieron los mecanismos de fosfo-desfosforilación en proteínas y, un poco más tarde, estos mecanismos se identificaron como elementos clave en el control de actividades enzimáticas. La fosforilación de proteínas consiste en introducir un grupo fosfato sobre un determinado aminoácido, normalmente serina, treonina o tirosina, cambiando así su estructura y composición químicas. Ya en 1992 los doctores Edmond H. Fischer y Edwin G. Krebs recibieron el Premio Nobel en Fisiología o Medicina por la descripción de los mecanismos de fosforilación y desfosforilación ligados a la regulación de actividades enzimáticas. Mientras que el

estudio de numerosas quinasas, las enzimas responsables de fosforilar proteínas, estaba muy avanzado y se iban identificando de manera constante en los años ochenta y principios de los noventa, el papel de las proteínas fosfatasas, las enzimas que revierten la acción de las quinasas, y su importancia en el control del metabolismo celular justo estaba emergiendo.[1] Las proteínas fosfatasas eran las hermanas pobres del negocio; pero esa fue la apuesta, nos propusimos identificar nuevas fosfatasas mediante técnicas de biología molecular y definir su función, especialmente en el metabolismo celular.

El organismo modelo escogido para identificar esas nuevas fosfatasas fue la levadura. La idea era que, una vez identificadas, pudiésemos definir su función biológica de manera mucho más sencilla que en el ratón. En esos momentos, la levadura ya era un referente en cuanto a su potencial genético y se estaban realizando descubrimientos muy importantes en el campo de la biología celular y, obviamente, en señalización intracelular. Esto supuso un reto. Hubo que aprender a trabajar con este organismo usando técnicas de biología molecular; y ahí un gran número de laboratorios, como por ejemplo el del doctor C. Gancedo, nos ayudaron a ello. Después de dos estancias, una en Alemania, en el laboratorio del doctor F. K. Zimmermann, y otra en Bélgica, en el laboratorio de los doctores M. Bollen y W. Stalmans, finalmente pudimos identificar nuevas proteínas fosfatasas, como las PPZ y PPG,[2] así como estudiar el papel en el metabolismo de otras fosfatasas identificadas en otros laboratorios. Estos estudios me permitieron ver la enorme potencialidad de la levadura como organismo modelo, que aún hoy en día tiene un protagonismo clave en los estudios que hacemos en nuestro laboratorio.

En paralelo, durante esos años, el campo de la señalización celular por mecanismos de fosfo-desfosforilación disfrutó de un auge increíble. Cabe resaltar que a principios de los noventa se logró la identificación de las vías de MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinases*) tanto en levadura como en mamífero. Las vías de señalización por MAP quinasas consisten en una cascada de quinasas que se activan de manera secuencial y son esenciales para transmitir de manera eficiente información sobre la presencia de factores de crecimiento y otros estímulos del exterior hacia el interior celular. La MAPK Fus3 de levadura fue la primera descrita por el laboratorio de G. Fink, después se identificó su ortóloga en mamífero, la ERK[3,4] así como las quinasas MEK1 y Ste7.[5,6] De hecho, fue en un congreso en Italia cuando tuve el placer de escuchar una fantástica charla sobre las fosfatasas que regulaban una vía de MAP quinasas, conocida como HOG. Esta vía de señalización acababa de ser identificada en levadura y era importante para que las células pudiesen sobrevivir a un estrés osmótico.[7,8] El estudio genético presentado por el doctor Haruo Saito me dejó totalmente impresionado, y enseguida me fijé en todos los trabajos publicados en su laboratorio de Boston. Fue entonces cuando en células de mamífero p38 y JNK se identificaron también las quinasas similares a Hog1.[9-11]

Esto fue lo que me convenció de que tenía que viajar a Estados Unidos y empezar a trabajar en el campo de la señalización celular y las MAP quinasas. Por razones obvias, Boston fue la elección, con la ventaja de que la gran concentración de laboratorios que hay allí permitió que tanto yo como Gemma, mi mujer, encontrásemos el laboratorio que queríamos. Gemma hizo la tesis en el mismo Departamento de Bioquímica trabajando

con ratones después de su formación como veterinaria, y en Boston se centró en el estudio de proteínas desacopladoras de la actividad mitocondrial. Evidentemente, el hecho de que los dos componentes de la pareja estuviésemos investigando, y el soporte recíproco que nos hemos dado en todo momento, han sido claves para desarrollar una carrera dedicada a la investigación.

La etapa predoctoral es un periodo de formación que, más allá de lo que uno acaba aprendiendo, es fundamental en el desarrollo de cualquier científico. Es cuando uno empieza a entender qué es la ciencia y cómo desenvolverse en ella. He de decir que el entorno y el ambiente en la que esta se desarrolló fueron de gran importancia para poder prepararme e iniciar con muchas ganas la siguiente etapa de formación que realicé en el laboratorio del doctor Haruo Saito, en Boston.

Boston, una ventana al conocimiento en un entorno privilegiado

La llegada a Boston no fue fácil, era un tres de enero y el aeropuerto estaba bloqueado por la nieve, lo que nos obligó a pasar aquella noche en Nueva York. La primera semana cayó medio metro de nieve, y el laboratorio donde iba a trabajar acababa de publicar un artículo en *Science*[12] donde se describía cómo se activaba la vía de señalización de HOG en la que yo iba a trabajar. Un paisaje no muy alentador. Sin embargo, en entornos donde la ciencia sigue un ritmo vertiginoso, todo puede cambiar de la noche a la mañana: una observación genética del laboratorio hacía pensar que la vía de HOG se controlaba de manera similar a los sistemas sensores bacterianos. La combinación de datos genéticos con un conjunto de experimentos bioquímicos nos permitió entender cómo funcionaba el sensor sometido a estrés, siendo el primer sistema de dos componentes que se describía en células eucariotas.[13] Esta experiencia me sirvió para entender lo importante que era combinar diferentes aproximaciones experimentales para conseguir respuestas a temas complejos.

He de reconocer que, si algo aprendí en el laboratorio del doctor Haruo Saito, fueron el potencial de la genética para entender la biología y el concepto del trabajo que tienen las personas orientales. Haruo es un genético impresionante y tiene una capacidad fuera de lo común para abordar temas extremadamente complejos con una gran simplicidad. Siempre que discutíamos posibles hipótesis y experimentos en su despacho, acababa con un cribado más en mi colección. Pero fue la combinación de esta genética con ensayos bioquímicos lo que nos dio pistas sobre cómo funcionaban los mecanismos de activación de la vía, así como de la identificación y caracterización de nuevos elementos claves en la transmisión de la información de esta. Durante ese tiempo también fuimos capaces de demostrar, conjuntamente con otros laboratorios, la gran conservación de esta vía con la de p38 en mamífero, gracias a experimentos de complementación e identificación de las quinasas correspondientes en mamífero.[14,15]

La identificación de Ste11 como un elemento de la vía de HOG fue algo del todo inesperado.[16] Ste11 era un elemento esencial en otra vía de señalización pero pudimos demostrar que, a pesar de que Ste11 estaba en diferentes vías, estas podían mantener una señaliza-

ción fidedigna y sin *crosstalk* o perturbaciones. Esto fue relevante para entender un poco mejor la transmisión de señales en estas vías de señalización en las células de levadura y de mamífero.

En esos años realizábamos reuniones conjuntas con otros grupos del mismo departamento (Universidad de Harvard). Allí, el grupo de la doctora P. Silver fue uno de los pioneros en el uso de la GFP (*Green Fluorescent Protein*) para visualizar proteínas y su localización celular. La fusión de Hog1 a GFP nos permitió visualizar el tránsito de Hog1 al núcleo de las células, segundos después de su activación en respuesta al estrés.[17] Esta observación sugería que la MAPK desempeñaba un papel muy importante en el núcleo. Esto estimuló los estudios que inicié posteriormente, ya de vuelta en Barcelona, para entender la función de Hog1 en el control de la transcripción y del ciclo celular.

Hay dos elementos más que me gustaría resaltar de la estancia en Estados Unidos que van más allá del ámbito del laboratorio y la investigación específica llevada a cabo allí. Creo que los dos aspectos son básicos para entender por qué la ciencia está tan reconocida en el país y la razón por la cual la biotecnología y el desarrollo de nuevas tecnologías están tan arraigados en el modelo americano. En primer lugar, hay que comentar el impacto experimentado cuando vi que en las noticias cada semana resaltaban aquellos descubrimientos que acababan de ser publicados en revistas de gran repercusión. Noticias dirigidas al público en general y que nunca había visto en nuestro país. Esto ahora está cambiando. Desde hace unos años ya hay buenos divulgadores y medios que se hacen eco de hechos científicos con rigurosidad. Este aspecto, que ha de ser cuidado por los propios científicos, es clave para que la sociedad vea con buenos ojos que se destinen parte de nuestros impuestos a la investigación y también, cómo no, para que haya una mejor concienciación de la necesidad de promover la investigación, si pretendemos tener una economía basada en algo más que en el sector de la construcción. La segunda cuestión sorprendente fue ver el enorme clúster de empresas biotecnológicas y farmacéuticas con base en el entorno de Boston. Allí los investigadores participaban en las empresas —muchas de ellas *spin off* o empresas derivadas de las propias universidades—, reclutaban investigadores en los diferentes departamentos y trabajaban en temas muy relacionados con los que nosotros llevábamos a cabo. Como no podía ser de otra manera, había contratos de transferencia de conocimiento y de resultados con industrias farmacéuticas, como por ejemplo con Sandoz, que analizaba el desarrollo de diferentes líneas de investigación en el Dana-Farber Cancer Institute. En esos momentos yo no tenía una idea muy clara de si eso era o no correcto, pero intuía que había un constante trasvase de la investigación básica a aquellas empresas que podían generar productos que revirtiesen en la sociedad. Esto significaba un retorno que iba más allá del trabajo en el laboratorio y que nunca me había planteado como científico, siempre interesado en responder preguntas básicas sobre cómo funcionaba la maquinaria dentro de nuestras células.

La vuelta y la posibilidad de formar un grupo de investigación en la UPF

Unas becas de reincorporación fueron las que nos llevaron de vuelta a España, en mi caso, a la UAB, no sin dudas sobre lo que iba a pasar, pero con la esperanza

de conseguir establecer un laboratorio para poder desarrollar allí algo que me parecía de gran interés para entender mejor la señalización intracelular. La idea era intentar identificar y caracterizar las funciones de las MAPK en el núcleo de la célula. La oportunidad apareció con un tempo perfecto. La UPF estaba buscando profesores para un nuevo grado de Biología Humana en Barcelona. Esta iniciativa, liderada por el doctor J. Camí y con la implicación del doctor M. Beato, posteriormente director del Centre de Regulació Genòmica (CRG), y un grupo de científicos fantásticos y con muchas ganas de hacer algo diferente, justo estaba poniéndose en marcha. A finales de 1999 me propusieron formar mi propio grupo en unos espacios aún vacíos, que no tardaron en llenarse de investigadores de diferentes ámbitos y orígenes. Fue una etapa de cierta incertidumbre pero con mucha ilusión en poder participar en un proyecto nuevo y revolucionario.

Al principio, formar un nuevo grupo y empezar a enseñar de manera sistemática no fue una tarea fácil, pero recibí mucha ayuda tanto interna como externa. En el grupo estábamos la doctora Eulàlia de Nadal y yo. Ella se incorporó como investigadora posdoctoral al finalizar su tesis en la UAB, y también creyó en el proyecto. Eulàlia ha sido una persona clave en el desarrollo del grupo de investigación desde sus inicios y ahora está liderando el grupo conmigo. La financiación no fue impresionante pero sí buena y constante desde sus inicios, hecho que hizo posible empezar a desarrollar todas nuestras ideas. Por ejemplo, en el año 2000, la European Molecular Biology Organization (EMBO) me ofreció la oportunidad de participar en el programa de jóvenes investigadores y esto, conjuntamente con el proyecto del ministerio y un proyecto de la Generalitat de Catalunya, nos permitió arrancar con fuerza. A partir de entonces, un gran número de investigadores en formación o posdoctorales han pasado por nuestro grupo y han contribuido de manera excepcional a poder cristalizar aquellas ideas iniciales y otras que aún estaban por venir.

Haciendo un inciso, aquí he de mencionar que la EMBO no solo me proporcionó ayuda económica, sino que también nos invitó a participar en un programa de *mentorship* y de formación como responsables de grupo. A mi modo de ver, esta formación es esencial para cualquier joven que quiera establecer su propio grupo de investigación. De hecho, en general, durante las diferentes etapas de formación, nos instruíamos como científicos para investigar pero no para gestionar equipos de investigación. Por ello, sugerí al Parc de Recerca Biomèdica de Barcelona (PRBB), entorno científico en el que se ubica nuestro grupo de investigación, que montase estos cursos de formación para los investigadores de nuestro ámbito. Bajo el paraguas del programa Intervals, estos cursos se hacen de manera programada en nuestros centros y, sin lugar a dudas, este es un componente esencial en la formación de cualquier investigador.

El impacto del estrés en la biología celular, de la levadura a las células humanas

Nuestros esfuerzos iniciales consistieron en buscar posibles dianas de la MAPK para así poder definir nuevas funciones biológicas para estas MAPK. Por aquel entonces, la gente ya sabía que las MAPK regulaban la transcripción, pero los mecanismos

a través de los cuales actuaban no estaban bien definidos. Los datos que sugerían que Hog1 desempeñaba un papel muy importante en la regulación génica los conseguimos gracias a uno de los primeros *arrays*, o matrices de expresión, existentes para la levadura. Fue en el laboratorio del doctor J. Ariño, a mi vuelta de Boston, donde pudimos realizar esos experimentos.[18] Ya en la UPF, empezamos a trabajar para identificar y definir mejor los mecanismos moleculares por los que la MAPK conseguía modular la expresión génica. Este es un trabajo que seguimos llevando a cabo actualmente y que ha permitido entender aspectos básicos de la regulación génica desconocidos todavía hoy en día.

Inicialmente, estos estudios se realizaron mediante el uso de técnicas básicas de análisis de expresión de genes, técnicas bioquímicas y de rastreo por doble híbrido. Esto dio sus frutos permitiendo identificar nuevos factores de transcripción bajo el control de la MAPK.[19, 20] Sin embargo, un aspecto realmente interesante fue ver que la MAPK se asociaba al ADN a través de los factores de transcripción.[21] Esta asociación al ADN sirve para que haya un contacto directo entre la MAPK con la ARN polimerasa II,[22] y se da tanto en los promotores como en las regiones codificantes de los genes de estrés.[23] Este descubrimiento ha sido clave para entender cómo muchas quinasas involucradas en señalización celular pueden regular la transcripción.

El salto cualitativo de estos estudios se produjo cuando la doctora De Nadal realizó en la Escuela Federal Politécnica de Zúrich (ETH), en Suiza, uno de los primeros cribados con toda la colección de mutaciones de la levadura mediante el uso de robots. Allí pudimos identificar un gran número de genes fundamentales para permitir una correcta expresión de los genes de estrés. Descubrimos que diferentes actividades como SAGA, Mediador y, mucho más interesante, el complejo de la histona deacetilasa RPD3 eran importantes para estimular la transcripción. Esto fue relevante, ya que hasta ese momento las histonas deacetilasas solo se consideraban elementos represores de la expresión génica.[24] Fue más tarde, pero también a partir de ese cribado inicial, cuando pudimos definir lo importante que es el estado de cromatina y su remodelación en respuesta al estrés, a través del complejo de RSC, en la respuesta transcripcional. Estos estudios, inicialmente llevados a cabo con un número restringido de genes, fueron analizados ya a escala genómica gracias a las nuevas tecnologías de hibridación y secuenciación, dando como resultado una mejor comprensión de todo el espectro de genes regulados y del papel de la cromatina.[25] Estos estudios también nos permitieron descubrir un conjunto de ARN no codificantes que se expresaban en respuesta al estrés.[26] La función de los ARN no codificantes aún es un misterio que se está investigando en un gran número de laboratorios. En conclusión, nuestros estudios, conjuntamente con los realizados por otros laboratorios, nos han permitido establecer que esta MAPK es capaz de regular prácticamente todos los pasos de la biogénesis de los ARN, desde su origen a la generación de proteínas, y mostrar así el potencial regulador de una sola quinasa en un aspecto clave de la biología celular.[27]

Otro de los aspectos que siempre nos interesó fue entender si una MAPK era capaz de regular la progresión en el ciclo celular. Esto pretendía responder a la pregunta básica

de si las células necesitaban detener su progresión en situaciones de estrés para poder adaptarse sin sufrir daño durante fases del ciclo celular como la replicación o la mitosis. Diferentes laboratorios intentaron responder esta pregunta analizando el ciclo en presencia de estrés. Los resultados fueron muy pobres; sin embargo, fue el uso de mutantes hiperactivos de la vía lo que nos permitió definir claramente en qué puntos del ciclo la MAPK estaba actuando. Esto abrió todo un campo de estudio que nos ha permitido establecer que Hog1 es capaz de regular elementos básicos de la maquinaria del ciclo celular. Inicialmente estudiamos cómo Hog1 regulaba la transición entre las fases G1 y S (replicación) del ciclo y observamos que la fosforilación de un inhibidor de la quinasa que controla el ciclo permitía inhibir su actividad y bloquear el ciclo.[28] Esto nos animó a seguir explorando más fases del ciclo celular y vimos que, efectivamente, G2-M también estaba siendo regulada de manera activa por Hog1. La idea que emerge de estos estudios es que, al no poder las células escoger cuándo van a sufrir un estrés, han de estar preparadas para responder a los cambios ambientales en cualquier momento. Con este planteamiento en la cabeza, nos pusimos a investigar lo que pasaba durante la fase S del ciclo celular. Esta es la fase en la que el ADN se replica y, por lo tanto, es clave para la integridad genómica. Aquí comprobamos que la MAPK era capaz de coordinar los procesos de replicación y transcripción para evitar colisiones entre las dos maquinarias celulares y procesos de inestabilidad genómica. Este aspecto es muy relevante, puesto que nos permitió definir un nuevo punto de control (*checkpoint*) desconocido hasta la actualidad.[29] Los datos obtenidos en levadura, por su relevancia en el control del ciclo celular, así como en otros aspectos de la biología celular, nos han llevado a estudiar estos aspectos también en células humanas.

La utilización de la levadura como organismo modelo siempre nos ha sido de gran ayuda para entender los mecanismos básicos de respuesta al estrés y cómo estos impactan en la biología de la célula. Sin embargo, nuestro principal objetivo siempre ha sido llegar a entender estos procesos en células humanas. Como ya he mencionado antes, evolutivamente estas vías están altamente conservadas estructural y funcionalmente, por lo que se encuentran tanto en las levaduras como en los mamíferos. Esta enorme conservación nos hizo suponer que también esto podía ser así con las dianas y mecanismos reguladores de estas. Usando células de mamífero, hemos podido comprobar que tanto la regulación transcripcional como el control del ciclo celular se regulan por mecanismos muy parecidos.[30] Esto abre nuevas perspectivas que nos hacen pensar que estudios mucho más avanzados en levadura pueden tener un impacto más allá de la comprensión de su biología.

Esperamos de los estudios en levadura y en mamíferos conseguir un conocimiento mucho más preciso de cómo las vías de señalización transmiten la información de lo que pasa en su entorno y cómo consiguen, mediante la regulación de procesos celulares básicos, adaptarse a esos cambios. Lo que hemos aprendido hasta ahora no solo revela parte de este proceso, sino que además nos permite entender nuevos procesos básicos de regulación que, en algunos casos, podrían ser susceptibles de ser nuevas dianas terapéuticas en un futuro no muy lejano.

Me gustaría añadir que los estudios realizados en nuestro laboratorio para entender la respuesta de las células al estrés no hubiesen sido posibles sin la colaboración con un gran número de laboratorios. Estas colaboraciones no solo nos han permitido realizar experimentos y técnicas fuera de nuestro alcance, sino también explorar nuevos campos y proporcionar nuevas visiones de nuestro trabajo.

La interfaz con la biología teórica y la implementación de la computación biológica

Ya en 2005, y a raíz de nuestros estudios con el ciclo celular, nos dimos cuenta de que el simple análisis de los datos no permitía predecir cómo estaba siendo regulado el proceso por la MAPK. Esto era así debido a la complejidad de los mecanismos regulados y a su elevado número. Desde hacía un tiempo, el modelado matemático de sistemas biológicos demostraba ser útil en muchos casos, por ejemplo en el estudio del ciclo celular.[31] Aquí fue donde iniciamos una aventura con físicos, matemáticos e ingenieros que aún perdura. El camino no fue fácil, las diferencias en el lenguaje y la lógica empleada en los dos mundos hacen que compartir proyectos no sea trivial; sin embargo, después de un tiempo, el esfuerzo ha mostrado que las sinergias que se pueden ganar en aproximaciones conjuntas son increíbles. Además de modelar aspectos del ciclo celular con el grupo de la doctora E. Klipp, en Alemania,[32] también nos aliamos con el grupo de sistemas complejos del doctor Ricard Solé, de la UPF. Inicialmente, esto sirvió para estudiar aspectos de la señalización en la vía de HOG,[33] y en una de las fantásticas presentaciones de Ricard vimos que podíamos complementar nuestra experiencia en biología con sus ideas teóricas. Así nació el reto de implementar sistemas vivos capaces de computar estímulos de manera programada. Usando nuestra herramienta preferida, la levadura, conseguimos un proyecto europeo y posteriormente una ayuda del European Research Council (ERC) para llevar a cabo este propósito. Sus primeros frutos ya fueron publicados en 2011,[34] presentando una nueva manera de hacer simple lo que aún hoy en día es un proceso muy complejo. Es la combinación de conocimiento y experiencia lo que hace posible que los proyectos, más allá de la imaginación, puedan realmente funcionar. Este es el campo de la biología sintética, en el que se desarrollan células con capacidades adicionales, donde nuestra imaginación no parece tener límites y no sabemos hasta dónde nos puede llevar.

Del conocimiento a la transferencia

A lo largo de mi carrera investigadora y durante el desarrollo del grupo de investigación, el descubrimiento y la curiosidad siempre han sido la fuerza motriz que ha inspirado nuestro trabajo. Sin embargo, ya en los últimos años, hemos aunado esta visión y la posibilidad de encontrar posibles aplicaciones a los resultados de nuestra investigación básica. Esta reflexión ha llegado especialmente de la mano de la Fundación Botín, gracias a la posibilidad de participación, dentro del Área de Ciencia, en el Programa de Transferencia Tecnológica. El objetivo básico del programa es promover la transmisión de conocimiento del laboratorio a la sociedad, persiguiendo un cambio profundo de mentalidad y un compromiso de los investigadores y las instituciones en

las que trabajan hacia esta meta. Esto no ha implicado un cambio en nuestra manera de investigar ni en lo que nos interesa investigar, pero sí una reflexión seria sobre la posible aplicación, a corto o largo plazo, de los resultados obtenidos. A través de una formación continuada y un seguimiento profesional del grupo hemos identificado aquellos aspectos que tienen potencial para generar posibles aplicaciones futuras. Este proceso no ha sido ni fácil ni obvio, pero de las fases iniciales de escepticismo sobre cómo es posible aplicar aquellos resultados de ciencia básica, hemos pasado a la esperanza y a planteamientos muy diferentes que nos llevan a proponer iniciar cribados de compuestos con posible aplicación farmacológica o con aplicaciones biotecnológicas utilizando células generadas en el laboratorio. No sabemos con certeza adónde nos conducirán estos estudios, pero lo que está muy claro es que este cambio cultural va a marcar para siempre el funcionamiento y la manera de actuar de nuestro grupo de investigación.

Esta convicción de que nuestra responsabilidad como científicos va más allá de la generación del conocimiento es la que me ha llevado, ya como gestor, a ser primero director del Departamento de Ciencias Experimentales y de la Salud (DCEXS) de la UPF y posteriormente, y de manera más relevante, vicerrector de la universidad, a intentar dotar a nuestro centro de los estímulos, la formación y aquellos elementos y estructuras que puedan facilitar el proceso de transferencia por parte de los investigadores. Este retorno a la sociedad de la formación y también de la investigación que se realiza en nuestras universidades es sin duda un esfuerzo esencial para que la propia sociedad lo reconozca y lo apoye.

Agradecimientos

Me gustaría acabar agradeciendo el trabajo y esfuerzo realizados por todos los estudiantes y posdoctorandos que han investigado en el laboratorio, así como a todas aquellas personas que han participado en mi formación, han colaborado con el laboratorio o simplemente me han apoyado durante mi trayectoria científica y no han podido ser nombrados en el artículo; sin ellos esto no habría sido posible. También querría agradecer todas las fuentes de financiación que han hecho posible nuestro trabajo en el laboratorio, como la Generalitat de Catalunya, el Ministerio de Economía y Competitividad, la Fundació La Marató de TV3, la Fundació Sant Joan de Déu (CIDI), la UE (FP6 y FP7), la EMBO, la ESF, el ERC, la Fundación Botín y la ICREA (ICREA Acadèmia).

Referencias

1. P. Cohen, «The structure and regulation of protein phosphatases», en *Annu Rev Biochem*, vol. 58, 1989, pp. 453-508.

2. F. Posas, A. Casamayor, N. Morral y J. Arino, «Molecular cloning and analysis of a yeast protein phosphatase with an unusual amino-terminal region», en *J Biol Chem*, vol. 267, 1992, pp. 11734-11740.

3. N. G. Ahn y E. G Krebs, «Evidence for an epidermal growth factor-stimulated protein kinase cascade in Swiss 3T3 cells. Activation of serine peptide kinase activity by myelin basic protein kinases in vitro», en *J Biol Chem*, vol. 265, 1990, pp. 11495-11501.

4. T. G. Boulton, G. D. Yancopoulos, J. S. Gregory, C. Slaughter, C. Moomaw, J. Hsu y M. H. Cobb, «An insulin-stimulated protein kinase similar to yeast kinases involved in cell cycle control», en *Science*, vol. 249, 1990, pp. 64-67.

5. N. Gómez y P. Cohen, «Dissection of the protein kinase cascade by which nerve growth factor activates MAP kinases», en *Nature*, vol. 353, 1991, pp. 170-173.

6. B. Errede, A. Gartner, Z. Zhou, K. Nasmyth y G. Ammerer, «MAP kinase-related FUS3 from S. cerevisiae is activated by STE7 in vitro», en *Nature*, vol. 362, 1993, pp. 261-264.

7. J. L. Brewster, T. de Valoir, N. D. Dwyer, E. Winter y M. C. Gustin, «An osmosensing signal transduction pathway in yeast», en *Science*, vol. 259, 1993, pp. 1760-1763.

8. T. Maeda, S. M. Wurgler-Murphy y H. Saito, «A two-component system that regulates an osmosensing MAP kinase cascade in yeast», en *Nature*, vol. 369, 1994, pp. 242-245.

9. J. Rouse, P. Cohen, S. Trigon, M. Morange, A. Alonso-Llamazares, D. Zamanillo, T. Hunt y A. R. Nebreda, «A novel kinase cascade triggered by stress and heat shock that stimulates MAPKAP kinase-2 and phosphorylation of the small heat shock proteins», en *Cell*, vol. 78, 1994, pp. 1027-1037.

10. B. Derijard, M. Hibi, I. H. Wu, T. Barrett, B. Su, T. Deng, M. Karin y R. J. Davis, «JNK1: a protein kinase stimulated by UV light and Ha-Ras that binds and phosphorylates the c-Jun activation domain», en *Cell*, vol. 76, 1994, pp. 1025-1037.

11. J. Han, J. D. Lee, L. Bibbs y R. J. Ulevitch, «A MAP kinase targeted by endotoxin and hyperosmolarity in mammalian cells», en *Science*, vol. 265, 1994, pp. 808-811.

12. T. Maeda, M. Takekawa y H. Saito, «Activation of yeast PBS2 MAPKK by MAPKKKs or by binding of an SH3-containing osmosensor», en *Science*, vol. 269, 1995, pp. 554-558.

13. F. Posas, S. M. Wurgler-Murphy, T. Maeda, E. A. Witten, T. C. Thai y H. Saito, «Yeast HOG1 MAP kinase cascade is regulated by a multistep phosphorelay mechanism in the SLN1-YPD1-SSK1 "two-component" osmosensor», en *Cell*, vol. 86, 1996, pp. 865-875.

14. M. Takekawa, F. Posas y H. Saito, «A human homolog of the yeast Ssk2/Ssk22 MAP kinase kinase kinases, MTK1, mediates stress-induced activation of the p38 and JNK pathways», en *EMBO J*, vol. 16, 1997, pp. 4973-4982.

15. D. Sheikh-Hamad y M. C. Gustin, «MAP kinases and the adaptive response to hypertonicity: functional preservation from yeast to mammals», en *Am J Physiol Renal Physiol*, vol. 287, 2004, F1102-F1110.

16. F. Posas y H. Saito, «Osmotic activation of the HOG MAPK pathway via Ste11p MAPKKK: scaffold role of Pbs2p MAPKK», en *Science*, vol. 276, 1997, pp. 1702-1705.

17. P. Ferrigno, F. Posas, D. Koepp, H. Saito y P. A. Silver, «Regulated nucleo/cytoplasmic exchange of HOG1 MAPK requires the importin beta homologs NMD5 and XPO1», en *EMBO J*, vol. 17, 1998, pp. 5606-5614.

18. F. Posas, J. R. Chambers, J. A. Heyman, J. P. Hoeffler, E. de Nadal y J. Arino, «The transcriptional response of yeast to saline stress», en *J Biol Chem*, vol. 275, 2000, pp. 17249-17255.

19. M. Proft, A. Pascual-Ahuir, E. de Nadal, J. Arino, R. Serrano y F. Posas, «Regulation of the Sko1 transcriptional repressor by the Hog1 MAP kinase in response to osmotic stress», en *EMBO J*, vol. 20, 2001, pp. 1123-1133.

20. E. de Nadal, L. Casadome y F. Posas, «Targeting the MEF2-like transcription factor Smp1 by the stress-activated Hog1 mitogen-activated protein kinase», en *Mol Cell Biol*, vol. 23, 2003, pp. 229-237.

21. P. M. Alepuz, A. Jovanovic, V. Reiser y G. Ammerer, «Stress-induced map kinase Hog1 is part of transcription activation complexes», en *Mol Cell*, vol. 7, 2001, pp. 767-777.

22. P. M. Alepuz, E. de Nadal, M. Zapater, G. Ammerer y F. Posas, «Osmostress-induced transcription by Hot1 depends on a Hog1-mediated recruitment of the RNA Pol II», en *EMBO J*, vol. 22, 2003, pp. 2433-2442.

23. M. Proft, G. Mas, E. de Nadal, A. Vendrell, N. Noriega, K. Struhl y F. Posas, «The stress-activated Hog1 kinase is a selective transcriptional elongation factor for genes responding to osmotic stress», en *Mol Cell*, vol. 23, 2006, pp. 241-250.

24. E. de Nadal, M. Zapater, P. M. Alepuz, L. Sumoy, G. Mas y F. Posas, «The MAPK Hog1 recruits Rpd3 histone deacetylase to activate osmoresponsive genes», en *Nature*, vol. 427, 2004, pp. 370-374.

25. M. Nadal-Ribelles, N. Conde, O. Flores, J. González-Vallinas, E. Eyras, M. Orozco, E. de Nadal y F. Posas, «Hog1 bypasses stress-mediated down-regulation of transcription by RNA polymerase II redistribution and chromatin remodeling», en *Genome Biol*, vol. 13, 2012, R106.

26. M. Nadal-Ribelles, C. Sole, Z. Xu, L. M. Steinmetz, E. de Nadal y F. Posas, «Control of Cdc28 CDK1 by a stress-induced lncRNA», en *Mol Cell*, vol. 53, 2014, pp. 549-561.

27. E. de Nadal, G. Ammerer y F. Posas, «Controlling gene expression in response to stress», en *Nat Rev Genet*, vol. 12, 2011, pp. 833-845.

28. X. Escote, M. Zapater, J. Clotet y F. Posas, «Hog1 mediates cell-cycle arrest in G1 phase by the dual targeting of Sic1», en *Nat Cell Biol*, vol. 6, 2004, pp. 997-1002.

29. A. Duch, I. Felipe-Abrio, S. Barroso, G. Yaakov, M. García-Rubio, A. Aguilera, E. de Nadal y F. Posas, «Coordinated control of replication and transcription by a SAPK protects genomic integrity», en *Nature*, vol. 493, 2013, pp. 116-119.

30. M. Joaquín, A. Gubern, D. González-Núnez, R. E. Josue, I. Ferreiro, E. de Nadal, A. R. Nebreda y F. Posas, «The p57 CDKi integrates stress signals into cell-cycle progression to promote cell survival upon stress», en *EMBO J*, vol. 31, 2012, pp. 2952-2964.

31. B. Novak, J. J. Tyson, B. Gyorffy y A. Csikász-Nagy, «Irreversible cell-cycle transitions are due to systems-level feedback», en *Nat Cell Biol*, vol. 9, 2007, pp. 724-728.

32. M. A. Adrover, Z. Zi, A. Duch, J. Schaber, A. González-Novo, J. Jiménez, M. Nadal-Ribelles, J. Clotet, E. Klipp y F. Posas, «Time-dependent quantitative multicomponent control of the G-S network by the stress-activated protein kinase Hog1 upon osmostress», en *Sci Signal*, vol. 4, 2011, ra63.

33. J. Macia, S. Regot, T. Peeters, N. Conde, R. Sole y F. Posas, «Dynamic signaling in the Hog1 MAPK pathway relies on high basal signal transduction», en *Sci Signal*, vol. 2, 2009, ra13.

34. S. Regot, J. Macia, N. Conde, K. Furukawa, J. Kjellen, T. Peeters, S. Hohmann, E. de Nadal, F. Posas y R. Sole, «Distributed biological computation with multicellular engineered networks», en *Nature*, vol. 469, 2011, pp. 207-211.

MANEL ESTELLER

UN VIAJE PERSONAL POR MI EPIGENÉTICA

18

Supongo que debería empezar por el principio. Fue un bonito 6 de septiembre de 1968. Hijo orgulloso de Sant Boi de Llobregat, cerca de Barcelona, en Cataluña. Mi madre era una santboiana de «pro», Rosa Badosa Valls, y mi padre un valenciano, Manel Esteller Agustina, que vino a Cataluña buscando un mejor futuro. Por parte materna, mi abuelo Pepet había sido campeón de ajedrez. El bisabuelo, Joan Badosa Briquets, era republicano. Había sido cronista del pueblo, jefe de la Unió de Rabassaires y duramente represaliado por el franquismo. Murió cuando yo tenía seis años, pero ha sido una figura familiar de mucha trascendencia por sus hitos: aprendió a leer y escribir de mayor, a los cuarenta años, y llegó a ser cronista de la villa de Sant Boi. También construyó con sus propias manos la casa donde aún vive mi familia. Mi hermano Joan, que tiene tres años menos que yo, de pequeño era mi mejor amigo. Jugábamos un número incalculable de horas con nuestros muñecos y compartíamos multitud de aventuras imaginarias. Siempre he considerado que la imaginación es una de mis pocas virtudes. Incluso una vez un profesor me recriminó tener demasiada. Tengo también una hermana, que nació quince años más tarde que yo, y que, por ello, he mirado muchas veces como a una hija. Pertenece ya a otra generación, y a mí me hace revivir la frescura de los días en los que yo era más joven. Fui un niño casero, de salir poco, de leer muchísimos tebeos y de ver, tumbado en el suelo, mucha televisión. Solo los veranos, en el pequeño pueblo de mi padre de Castellón, se escapaban de este ritmo, que a mí ya me gustaba. Últimamente he empezado a percibir que haber extendido mi tiempo de juego más allá de lo que me tocaba, por la media de la población, probablemente me ha permitido tener una flexibilidad mental muy útil para resolver los problemas de la enfermedad humana.

En la escuela Joan Bardina, donde hice la Educación General Básica (EGB), tenía pocos amigos, aunque solía caer bien a todos los compañeros, y no me metía en líos. Mi vecino de pupitre, Gerard, fue mi colega de aquellos años, en parte porque también gozaba de una capacidad creativa prodigiosa. Tuve buenos y malos maestros. Entonces la televisión todavía era en blanco y negro pero, cuando terminé quinto, el color ya se había instalado en las pantallas. En aquella época recuerdo que mi madre me apuntó a clases extraescolares de inglés, algo por lo que siempre le estaré agradecido, porque conocer esta lengua me permitió después abrirme mejor al mundo. El catalán se enseñaba un poco a escondidas, y profesores valientes, como el señor Obiols y el señor García —recordemos que entonces los profesores no tenían nombre de pila—, lo introducían en las clases. «Este niño no vale para estudiar», advirtió un día una profesora a mis padres. ¡Qué visión tuvo la buena señora! Decidí que quería ser médico. Hacía sexto de EGB. Me daban un poco de miedo los enfermos, pero poder ayudarles a curarse debía de ser genial.

Tuve la suerte de estudiar en un instituto que considero muy bueno, la Escola Esportiva Llor de Sant Boi de Llobregat, donde se han formado atletas de élite, como los hermanos

Pau y Marc Gasol. Entre los buenos maestros de este centro estaba la profesora Maite, de Catalán, que me hizo un buen discurso en plena adolescencia para decirme que todo el potencial que tenía se estropearía si no estudiaba más. El profesor de Química y Física, Jordi Carvajal, estimuló mi vocación investigadora. Y gracias a él empecé a hacer lo que más me gustaba, trabajos y pequeños artículos científicos, y mi primer experimento en un laboratorio. Considero que la educación es el arma más poderosa para cambiar el mundo. Los padres y los maestros tienen una responsabilidad directa sobre el futuro de cada niño y niña. De ahí la importancia de los modelos: acostumbramos a ser lo que vemos. De esta época del instituto hay dos hechos relevantes para mi futuro posterior: que mi mejor amigo era un chico brillantísimo, llamado Chilla, que me recomendó buenos libros para leer; y que fui ganador del premio de la Comisión Interdepartamental de Investigación e Innovación Tecnológica (CIRIT) dos años consecutivos, 1986 y 1987. Conseguir estos premios, con diecisiete o dieciocho años, te estimula mucho. Después del instituto, en un *sprint* final, conseguí lo que más quería en este mundo: entrar en la Facultad de Medicina. La matrícula de honor del Curso de Orientación Universitaria (COU) —el curso previo que se hacía antes de entrar a la universidad— me permitió no tener que pagar la inscripción y así aliviar la economía familiar. No podemos perder ningún chico o chica con talento potencial por motivos económicos. Sería una gran desgracia para el país.

En la carrera de Medicina yo era una rara avis. La hacía porque quería ser médico. Pero, como he dicho anteriormente, no para tratar a enfermos, sino para investigar las causas de las enfermedades y estudiar nuevos tratamientos. En la facultad también encontré profesores brillantes y profesores malos. Siempre he intentado imitar a los primeros y me he quedado con todo lo que aprendí de ellos. A los malos profesores los he olvidado —excepto para recordarlos en algún encuentro casual con excompañeros—. Hubo dos de la facultad que me marcaron especialmente: el doctor Ferran Climent, para explicar de forma clara un asunto tan complicado como es la bioquímica, y el doctor Cristóbal Mezquita, que amaba verdaderamente su trabajo de enseñanza —para mí, ha sido el mejor docente que he conocido—. Enseguida me di cuenta de que la bioquímica y la biología molecular me apasionaban. Desde el primer curso de carrera hasta el último de sexto fui alumno interno de ese departamento e iba siempre que podía. El doctor Jesús Ureña fue quien me enseñó la sistemática de laboratorio seria y la necesidad de sumar horas de trabajo intenso con buenas ideas —recordemos que el éxito es 5% inspiración y 95% transpiración—. Pero las asignaturas más clínicas de la carrera comenzaron a hacerse pesadas, y fueron las tardes en el laboratorio y las primeras reuniones de jóvenes investigadores en las que participaba las que me animaban el día. En esos encuentros conocí brevemente al premio Nobel Severo Ochoa, ya muy mayor, y a su discípula, la doctora Margarita Salas. Y un día de 1992, en plena Barcelona olímpica y con el Barça de campeón de Liga en Tenerife, salí de la facultad con mi título de licenciado bajo el brazo.

Siguiendo mis objetivos de investigación, quería desarrollar mi trabajo cerca de los pacientes, pero en aquella época no había centros de investigación como los que tenemos ahora. La única investigación se desarrollaba en los departamentos universitarios o en pequeños laboratorios dentro de hospitales. Al final me decanté por la investigación en bioquímica y biología molecular, que comenzaba a realizarse dentro de las instituciones sanitarias.

Pero de entrada no tuve suerte. En uno de estos centros entregué el currículum y nunca se supo nada más. En otro, después de un día de trabajo y de ver que nadie sabía ni pegar un sello en una carta, salí por piernas. Tras estas experiencias fallidas, decidí abordar en un ascensor, para evitar que se pudiera escapar fácilmente, a un médico investigador del Hospital Vall d'Hebron. Y funcionó, porque me aceptó en su grupo. En este centro empecé a desarrollar mi línea de investigación en genética molecular del cáncer, y estudié las mutaciones que se producen en el ADN del cáncer de cuerpo de útero. Durante aquella fructífera etapa colaboré con cirujanos y patólogos y nos convertimos en una de las principales autoridades mundiales en este tipo de tumor. Mi formación complementaria posterior con nuestros hermanos escoceses de la Universidad de Saint Andrews me permitió estudiar el cáncer de mama hereditario y sumergirme, por primera vez, en una cultura diferente. Me fui adentrando en el estudio de la genética de los tumores, pero a medida que íbamos avanzando siempre quedaba una pregunta por resolver: ¿por qué había tumores que no sufrían mutaciones? Tenían que existir mecanismos alternativos para «cargarse» los genes.

No sé cómo, pero me llegó a las manos un artículo recomendado por el primer oncólogo médico del Estado con conocimientos de biología molecular, el doctor Rafael Rosell, que daba pie a pensar que podría haber alteraciones por encima de los genes responsables del cáncer. El estudio estaba liderado por investigadores del Johns Hopkins University and Oncology Center, en Baltimore, Estados Unidos. Tenía que ir. A principios de 1997 llegué a mi laboratorio americano. Y sin embargo, el día antes de irme de casa y ya con las maletas hechas, me llamaron de un importante hospital de Barcelona para ofrecerme una plaza muy buena. ¡Qué cosas tiene la vida! Pero en mis ojos ya brillaba el sueño de Estados Unidos y no me lo pensé. En Baltimore me puse a trabajar duro, con jornadas de doce a catorce horas, pero la sensación de importancia de lo que estábamos descubriendo nos embriagaba. Entre los años 1998 y 2001 publicamos los descubrimientos fundamentales que habíamos realizado, y que consolidaban la observación de que hay genes protectores del cáncer que dejan de estar activos en los tumores por una señal química llamada metilación del ADN. ¡Y todo esto sucedía sin mutaciones! Los genes permanecían intactos, solo estaban «dormidos». Fueron grandes años de felicidad, y al éxito profesional se sumaba la estabilidad personal y la independencia económica. Aunque no tenía las responsabilidades de ser jefe.

Estados Unidos es un país ejemplar donde el valor de una persona se reconoce por sus méritos, sin importar su origen geográfico, la situación económica, las creencias o la religión. Mi carrera habría sido otra muy diferente sin la libertad que los doctores James Herman y Stephen Baylin me dieron para investigar. Y, además, pude compartir laboratorio con el doctor Bert Vogelstein, uno de los padres de la genética molecular moderna del cáncer. Fue un periodo de grandes hallazgos y también de historias irrepetibles, como la llamada de la Casa Real que recibió la joven secretaria de Maryland de mi grupo o la publicación de un artículo en el *New England Journal of Medicine*, que abrió también un Telediario, y daba a conocer una prueba molecular que habíamos desarrollado para prever la respuesta de los pacientes a la quimioterapia.[1]

Y llegados al año 2001, yo tenía que dar una conferencia en una ciudad junto al mar, en la costa Este. Los científicos solemos ir a muchos congresos. Estos foros sirven para presentar

los resultados de tus trabajos y ver qué están haciendo otros colegas en tu área o similares. Pues bien, en uno de estos congresos, en 2001, me encontré al doctor Mariano Barbacid. Él había sido uno de mis modelos de adolescencia y era el descubridor de la primera mutación en un oncogén. De pequeño yo tenía en la habitación un póster de Marilyn Monroe, pero si hubiera tenido el de un científico seguramente habría sido de Barbacid. Pues bien, en aquel congreso Mariano me dijo que estaba montando un gran centro en Madrid, el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), y me propuso liderar mi propio grupo de investigación epigenética. Evidentemente, me alegré mucho por el reconocimiento, pero de repente me vino a la cabeza un pensamiento: «¿Tendré que vivir en Madrid?». Poco después recibí otra oferta de Barcelona, pero no podía dejar pasar la oportunidad de trabajar con una persona a la que admiraba, y admiro, profesionalmente. Lo hablé con mi mujer y, en octubre de 2001, llegaba al CNIO como jefe de grupo del Laboratorio de Epigenética del Cáncer. Seguramente, había escogido el momento adecuado para volver a España. Era septiembre de 2001, concretamente el 11-S en el que se perpetraron los atentados terroristas a las Torres Gemelas de Nueva York. Estados Unidos ha tardado una década en reencontrar parte de aquella inocencia creadora que lo caracterizaba.

En Madrid me adapté bien y solo puedo decir cosas buenas de la ciudad y de su gente. Barbacid y yo somos amigos porque somos gente práctica y buscamos el mérito con independencia del color. Mi grupo fue el primero en instalarse en el CNIO. Trabajábamos con bufandas y abrigos porque cuando empezamos todavía no habían instalado la calefacción. Recuerdo que nos visitó la ministra Celia Villalobos y quedó muy sorprendida. Pero era un nuevo reto. Era mi primera posición como jefe de un laboratorio y fue de nuevo un periodo muy intenso de descubrimientos, que cambiaron la forma de mirar la célula tumoral. Fui lo suficientemente hábil, o afortunado, para escoger bien a los primeros miembros de mi laboratorio, como los doctores Esteban Ballestar o Mario Fraga. Esto fue decisivo. En un descubrimiento participan muchas personas, y uno vale lo que vale su equipo. Messi no marca los goles solo. De aquella magnífica época en el CNIO hay que recordar los primeros estudios en los que demostramos que personas genéticamente iguales (gemelos monocigóticos) son epigenéticamente diferentes y, por lo tanto, pueden tener diferente susceptibilidad a las enfermedades. Este descubrimiento fue portada del *New York Times* y abrió el noticiario de la NBC y la BBC. También se hizo entonces el hallazgo de que la forma en la que se empaqueta el ADN, que crea una especie de fibra de dos metros de largo en cada célula, está completamente alterada en el cáncer. Este trabajo permitió abrir los ojos a muchos investigadores de campos muy diversos.

En 2008, con un hijo pequeño y los padres que se hacían mayores, pensé que, después de doce años de dar vueltas por el mundo, me había llegado la hora de volver a casa. En octubre acepté la posición de director del Programa de Epigenética y Biología del Cáncer (PEBC) del Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), que agrupa toda la investigación del campus de Bellvitge, incluyendo su hospital generalista, el oncológico Duran i Reynals y una parte de la Universidad de Barcelona. También me inicié como profesor de la Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), agencia creada por el incombustible doctor Andreu Mas-Colell para reclutar de forma no funcionarial a investigadores que deseen trabajar en Cataluña. Y volví como profesor de Genética a la Facultad de Medicina,

con el secreto anhelo de que si podía inspirar solo a uno de esos alumnos por clase a ser investigador, ya habría cumplido mi propósito.

Estos últimos seis años han sido duros debido a los recortes: desarrollar una investigación de calidad en condiciones difíciles, pasar de dirigir mi grupo a un departamento con varios jefes de grupo e investigadores, etcétera. Pero a pesar de las dificultades, ha valido la pena porque los descubrimientos en el laboratorio han continuado surgiendo. El desciframiento de las alteraciones del llamado «genoma oscuro» o ADN no codificante en los tumores, la extensión de nuestra investigación en el alzhéimer, a raíz de la muerte de mi abuela —yaya Paquita—, o el desarrollo de los primeros fármacos epigenéticos que se están utilizando para tratar las leucemias y los linfomas son un ejemplo. Pero uno ve reconocido su trabajo, el de su equipo y el de su pequeño país cuando desde el mejor centro de tratamiento del cáncer del mundo, el MD Anderson de Houston, su director comenta: «Si es algo de epigenética, pregunte a aquel investigador que trabaja en Barcelona».

Quisiera ahora que me acompañarais con más detalle en otro viaje, más allá del biográfico descrito en las páginas anteriores. Un recorrido por mi trabajo: de la genética del cáncer a la epigenética de las enfermedades. Un trayecto dentro del cuerpo humano y sus patologías, para poderos explicar cómo, poco o mucho, desde nuestro laboratorio hemos contribuido a agrandar el conocimiento de estas materias. Para unos, mi exposición se quedará corta y creerán que estoy despreciando su experiencia en estas áreas; para otros, me habré excedido y elaborado todo un jeroglífico de tecnicismos.

Los seres vivos están formados por células. Hay organismos que tienen solo una, como la *Escherichia coli*, que nos puede hacer visitar el baño demasiado frecuentemente, y otros, como nosotros, los seres humanos, que tenemos millones. Células hay de dos tipos: unas más «primitivas», llamadas procariotas, y otras más «avanzadas», las eucariotas. La bacteria *Escherichia coli* es procariota, mientras que nuestras células son eucariotas. De ellas hablo a continuación. Las células del cuerpo humano tienen tres partes: una membrana que las rodea, formada principalmente por grasas (lípidos); una sustancia viscosa líquida, que se encuentra dentro de la membrana, y que está compuesta de agua y de otras sustancias disueltas; y el núcleo, situado en el centro. Este núcleo celular contiene el ácido desoxirribonucleico (ADN), el material genético, que por suerte o desgracia, nos viene dado por nuestros padres. El ADN es un rompecabezas lineal formado por cuatro piezas (nucleótidos) denominadas A, C, T y G. Sus múltiples combinaciones explican que no haya dos personas iguales. Hay fragmentos de ADN y, por lo tanto, secciones del rompecabezas, formadas por miles de A, C, T y G. Son los genes, las unidades funcionales del ADN. De ellas nace una molécula llamada ácido ribonucleico (ARN), que se encarga de originar otras moléculas: las proteínas. El ADN da las instrucciones de funcionamiento del organismo para que las células puedan fabricar las proteínas. Es quien manda. Los genes son las partes del ADN que contienen estas instrucciones, y a su vez las proteínas hacen el trabajo sucio; es decir, ejecutan las funciones específicas dictadas y actúan transportando oxígeno (la hemoglobina), controlando el azúcar de la sangre (la insulina), permitiendo ver por la retina (la rodopsina). Ya os he presentado a todos los actores de la obra. La función puede comenzar.

El cáncer es una enfermedad de las células. Estas unidades de nuestro cuerpo, que inicialmente eran obedientes y serviciales, se vuelven egoístas y buscan solo su propio beneficio sin mirar a quién se llevan por delante. Entonces, unos genes de las células cancerosas, llamados oncogenes, se activan y empiezan a inducir el crecimiento descontrolado de estas, mientras que otros que deberían ser nuestros protectores (los genes supresores tumorales) se inhiben. Uno de los primeros oncogenes encontrados fue el gen K-ras, mientras que entre los genes supresores tumorales destacan los genes p53 y el Rb. Las alteraciones que sufren estos genes es más probable que se den a medida que envejecemos y también cuando nos exponemos a carcinógenos, como los contenidos en el tabaco y la radiación.

La única alteración de los genes en cáncer descrita desde el descubrimiento de los primeros oncogenes, a comienzos de los años ochenta y hasta mediados de los noventa, fue la mutación. Pero entonces aparecimos nosotros, y otros grupos de investigación, para romper esta «monotonía». Si entre los años 1992 y 1996 fui capaz de encontrar nuevas mutaciones en el ADN del tipo de tumor que estudiaba, de repente descubrí algo todavía más sorprendente. Un gen protector, llamado hMLH1, implicado en el cáncer hereditario, que representa el 10% de todos los tumores, no estaba nunca mutado. ¿Por qué razón? Pues porque el gen estaba «metilado».[2] No era una mutación típica, sino una alteración, una marca química que lo desregulaba. Y ahora sí que tengo que hacer una pausa para explicarlo de manera clara. Como recordarán, el ADN es el que da órdenes a las células. Pero a pesar de que todas nuestras células tienen los mismos genes, hace un trabajo muy diferente una neurona que una célula del corazón. La primera crea neurotransmisores. La segunda ha de latir. ¿Cómo lo ha solucionado la evolución? Poniendo «interruptores químicos» que se encargan de encender o apagar los genes de nuestro ADN. Volviendo al caso anterior, un gen se expresa —o está activo— en una neurona pero no en el corazón, porque allí no tiene ninguna función. En la enfermedad del cáncer sucede que estos interruptores no funcionan bien. El cuerpo humano está dotado de unos genes protectores del cáncer, como el hMLH1 que estábamos estudiando. Este gen deja de protegernos contra esta enfermedad debido a una señal química que actúa como parada y bloquea su expresión. Entonces, la célula se transforma de normal a tumoral. Esta alteración química se conoce como metilación y es responsable, en parte, de la aparición de tumores.

Hoy podemos afirmar que el desarrollo de un cáncer hereditario no se produce solo por la herencia de un gen alterado, sino por la coincidencia de otras alteraciones celulares, como la metilación, que silencia a los genes protectores anticáncer. Nuestros primeros descubrimientos sobre la inactivación de genes protectores o supresores tumorales debido a la metilación empezaron a finales de los años noventa. Entonces descubrimos los primeros genes alterados. Esto permitió que se estudiara más y que haya habido un *boom* en este tipo de investigación. Ahora son cientos los genes anticáncer que sabemos que no funcionan y se apagan debido a la metilación.

A veces hay hallazgos que te acompañan durante décadas y aún ahora desencadenan nuevos descubrimientos. Por ejemplo, en 1999 encontramos que la inactivación del gen de reparación del ADN, conocido como MGMT, se producía en tumores humanos por el mecanismo químico de la metilación.[3] En el año 2000 se demostró que los tumores con esta

alteración morían antes cuando su ADN era dañado por la quimioterapia.[1] Hoy, la determinación de la metilación del gen reparador MGMT es una de las pruebas que se realizan en pacientes con tumores cerebrales (gliomas) para decidir qué terapia aplicar. Y recientemente, este 2013, hemos descubierto que esta prueba también se puede hacer en el cáncer de colon.

Sin resultar pesado, permítanme dar un segundo ejemplo. En el 2000 se produjo también el descubrimiento de la inactivación por metilación del gen de cáncer de mama BRCA1.[4] Este hallazgo nos ha permitido predecir qué tumores mamarios serán más sensibles a fármacos como los inhibidores de PARP[5] y los derivados del platino.[6] Incluso hemos encontrado que un primo hermano del gen BRCA1 (el gen SRBC) se inactiva en tumores digestivos prediciendo la respuesta a otros agentes de quimioterapia que también actúan a nivel del ADN.[7] Por las fechas de estos descubrimientos pueden ver que hay hallazgos que les separan diez años desde las primeras pistas a sus aplicaciones clínicas. Esto hace que a veces sea complicado convencer de la trascendencia de la ciencia a los impacientes gestores y políticos, que no ven más allá de las legislaturas.

¿Qué tiene que ver todo esto con la epigenética? Recapitulemos. La epigenética es todo aquello que está por encima de la genética, lo que regula nuestros genes, nuestro genoma, nuestro ADN. Y tiene una aplicación muy importante en algunas enfermedades humanas, entre ellas el cáncer. El cáncer es el resultado de modificaciones en el material genético que transforman las células normales en malignas. Desde hace un tiempo se sabe que no siempre hay una mutación; es decir, una modificación en la secuencia de letras del ADN (A, C, T y G) para que la función de un gen altere y dé lugar a un tumor. Basta con modificaciones químicas. Estas alteraciones que afectan a la función de un gen, activándolo o silenciándolo, sin que se modifique la secuencia del ADN, son los cambios epigenéticos. La epigenética puede explicar cosas que escapan a la genética. Todos tenemos un ADN, que sería el abecedario, que forma nuestras células y las pone en orden, pero tenemos que añadir una ortografía o gramática que ponga los acentos, las mayúsculas, los paréntesis, etcétera, y que confiera sentido a dicho abecedario. Esto es la epigenética. Si pensamos en un ordenador, la maquinaria (el *hardware*) sería la genética, mientras que toda la programación (el *software*), lo que lo hace funcionar, sería la epigenética. La metilación del ADN de la que os he hablado anteriormente es una señal epigenética: cambia la actividad del gen sin mutarlo. Todos los tejidos y órganos del cuerpo humano tienen la misma genética (ADN), pero diferente epigenética; esto es, señales químicas o interruptores que regulan el ADN y permiten la expresión adecuada de los genes y que un gen se exprese en el ojo, la piel, el corazón, y no donde no debería expresarse.

Hay dos ejemplos muy claros de la fuerza de la epigenética derivados del estudio de seres genéticamente idénticos. El primer ejemplo se refiere a un descubrimiento que llevó a cabo el doctor Rudolf Jaenisch a partir de la clonación de ratones. Este investigador demostró que, si se clonaba un ratón, es decir, se transfería su ADN, no se producía exactamente el mismo ratón original. A pesar de que los dos ratones tenían el mismo ADN (los mismos genes), su epigenética (la regulación de los genes) era diferente. Su ADN había sido capaz de ser fotocopiado pero su epigenética no, y por lo tanto sus marcas

químicas diferían. Este ejemplo evidencia que el proceso de clonación no es perfecto y que origina copias imperfectas. El segundo ejemplo tiene relación con un hallazgo de mi laboratorio, después de años de darle vueltas, primero en Baltimore y luego en Madrid, y hace referencia a los gemelos monocigóticos, que pueden tener el mismo ADN y los podemos considerar clones producidos de forma natural. Si el ADN fuera lo único importante, estas personas deberían ser fotocopias, calcadas en todo, y no lo son. Pueden tener características antropomórficas, caracteres y enfermedades diferentes: uno de ellos puede desarrollar cáncer y el otro no, por ejemplo. Pues bien, partiendo de esta afirmación, en 2005 demostramos que los gemelos monocigóticos, a pesar de tener la misma genética, poseen una epigenética diferente, que se manifiesta con distintos niveles de metilación del ADN de cientos de genes. A lo largo de su vida pueden desarrollar marcas químicas en su ADN que los diferencian y tener encendidos o apagados elementos distintos de su material genético. La regulación de los genes que se adquiere durante la vida permite expresar o no una enfermedad. No existe, por lo tanto, un determinismo genético. Este descubrimiento fue publicado en un artículo de la revista *PNAS,* de la Academia Nacional de Ciencias Americana,[8] y es uno de los más citados de su legendaria historia. Recientemente, hemos demostrado que, cuando un gemelo enferma de diabetes o cáncer, su epigenética cambia cuando aún no lo ha hecho su genética. Incluso, hemos visto que muchas diferencias entre las personas que no son gemelas tienen una base epigenética, lo que explicaría las diferentes tolerancias a alimentos, fármacos e infecciones.[9]

Si creen que hasta aquí el tema es fácil, ahora les haré entrar en un torbellino de emociones nuevas: la metilación del ADN es solo una de las decenas de modificaciones epigenéticas de nuestras células y los genes únicamente el 10% de nuestro genoma. Resulta que además de dicha metilación del ADN, el material genético también se puede controlar «apretándolo» o «relajándolo». Como he comentado anteriormente, el ADN es un hilo de dos metros de longitud que cabe no solo dentro de una célula, sino dentro del núcleo celular. Pero si puede incluirse en un espacio tan minúsculo es porque se encuentra muy empaquetado, y la forma de plegarse el ADN en una célula del intestino es muy diferente a como lo hace en una célula blanca de la sangre. Está altamente regulado. De esta envoltura se encargan las histonas, unas proteínas como perlas de un collar que envuelven el ADN y permiten que quede en el núcleo. Y ahora el punto final: que las histonas aprieten, más o menos, el ADN y, por lo tanto, apaguen o enciendan un gen, depende de modificaciones químicas (la metilación química de las histonas, pero también hay otros, como la acetilación, la fosforilación, la ubiquitilación, la sumoilación, etcétera), las que responden a cambios epigenéticos. Son marcas epigenéticas. Muchas de estas alteraciones se descubrieron en levaduras y gusanos y serán merecedoras del Nobel en los próximos años. Cabe destacar en esta tarea como merecedor del galardón al doctor David Allis, entre otros.

Nuestro laboratorio trasladó el conocimiento que aportaban estos trabajos a las células humanas y, posteriormente, al cáncer. Y a partir de aquí descubrimos que la acetilación y la metilación de las histonas estaba alterada en tumores humanos. Era la primera vez que se describía este fenómeno y se dio a conocer en la mejor revista de genética en 2005.[10] Ese fue también el punto de partida para muchos descubrimientos posteriores, entre los que cabe destacar el desarrollo de fármacos epigenéticos contra el cáncer, como los inhibidores de la metilación del ADN y la desacetilación de histonas, que lo que hacen es intentar volver a la epigenética

normal. Estos medicamentos reprograman las células tumorales, como un antivirus al virus del ordenador, y eliminan las marcas químicas erróneas de la célula cancerosa.

Quisiera también explicar la afirmación de que solo el 10% del ADN son genes. ¿Qué es pues el 90% restante? La mitad de este son vestigios evolutivos, podemos imaginarlos como restos arqueológicos de cuando «éramos» otras especies, los parásitos moleculares que nos acompañan. Pero hay otra mitad de este «ADN oscuro» (o ADN no codificante) que tiene un papel en el ser vivo: los interruptores de los interruptores. Producen unas pequeñas moléculas de ARN encargadas de activar o desactivar genes, pero no originan proteínas. Se encargan de regular el resto del ADN. Una especie de mezcla entre policía y guardia urbana. Desde que aparecieron las primeras pistas sobre la existencia de este «genoma oscuro» nos lanzamos a su estudio, y desde el año 2007 hasta hoy hemos podido demostrar que las alteraciones en sus moléculas están relacionadas con la formación de tumores.[11-16] Sufre en cáncer los mismos cambios epigenéticos que el «genoma convencional». Más conocimiento, más herramientas y dianas para vencer esta enfermedad.

La investigación en el laboratorio no se detiene. Después de haber obtenido los primeros epigenomas humanos en Europa[17] y dar las claves para entender la contribución de la epigenética al envejecimiento,[18] continuamos contribuyendo en la investigación del síndrome de Rett, con las familias afectadas desde 2001 hasta ahora.[19] El síndrome de Rett es una enfermedad de las denominadas raras, donde falla un interruptor epigenético. También seguimos investigando otros síndromes, como el de Sotos o el de Rubinstein-Taybi, y hemos abierto nuevas líneas para estudiar la epigenética alterada de otras enfermedades humanas, como el alzhéimer. En 2013 mostramos las primeras lesiones epigenéticas en el córtex cerebral de los pacientes que padecen esta enfermedad.[20] Las enfermedades neurodegenerativas son uno de los grandes retos del siglo XXI. Estaremos alerta y continuaremos investigando.

Bibliografía

1. M. Esteller, J. García-Foncillas, E. Andion, S. N. Goodman, O. F. Hidalgo, V. Vanaclocha, S. B. Baylin y J. G. Herman, «Inactivation of the DNA-repair gene MGMT and the clinical response of gliomas to alkylating agents», en *N Engl J Med*, vol. 343, n.º 19, 9 de noviembre de 2000, pp. 1350-1354.

2. M. Esteller, R. Levine, S. B. Baylin, L. H. Ellenson y J. G. Herman, «MLH1 promoter hypermethylation is associated with the microsatellite instability phenotype in sporadic endometrial carcinomas», en *Oncogene*, vol. 17, n.º 18, 5 de noviembre de 1998, pp. 2413-2417.

3. M. Esteller, S. R. Hamilton, P. C. Burger, S. B. Baylin y J. G. Herman, «Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia», en *Cancer Res*, vol. 59, n.º 4, 15 de febrero de 1999, pp. 793-797.

4. M. Esteller, J. M. Silva, G. Domínguez, F. Bonilla, X. Matias-Guiu, E. Lerma, E. Bussaglia, J. Prat, I. C. Harkes, E. A. Repasky, E. Gabrielson, M. Schutte, S. B. Baylin y J. G. Herman, «Promoter hypermethylation and BRCA1 inactivation in sporadic breast and ovarian tumors», en *J Natl Cancer Inst*, vol. 92, n.º 7, 2000, pp. 564-569.

5. J. Veeck, S. Ropero, F. Setién, E. González-Suárez, A. Osorio, J. Benítez, J. G. Herman y M. Esteller, «BRCA1 CpG island hypermethylation predicts sensitivity to poly(adenosine diphosphate)-ribose polymerase inhibitors», en *J Clin Oncol*, vol. 28, n.º 29, 10 de octubre de 2010, e563-564.

6. O. A. Stefansson, A. Villanueva, A. Vidal, L. Martí y M. Esteller, «BRCA1 epigenetic inactivation predicts sensitivity to platinum-based chemotherapy in breast and ovarian cancer», en *Epigenetics*, vol. 7, n.º 11, 7 de noviembre de 2012, pp. 1225-1229.

7. C. Moutinho, A. Martínez-Cardús, C. Santos, V. Navarro-Pérez, E. Martínez-Balibrea, E. Musulen, F. J. Carmona, A. Sartore-Bianchi, A. Cassingena, S. Siena, E. Elez, J. Tabernero, R. Salazar, A. Abad y M. Esteller, «Epigenetic inactivation of the BRCA1 interactor SRBC and resistance to oxaliplatin in colorectal cancer», en *J Natl Cancer Inst*, vol. 106, n.º 1, enero de 2014, djt322.

8. M. F. Fraga, E. Ballestar, M. F. Paz, S. Ropero, F. Setién, M. L. Ballestar, D. Heine-Suñer, J. C. Cigudosa, M. Urioste, J. Benítez, M. Boix-Chornet, A. Sánchez-Aguilera, C. Ling, E. Carlsson, P. Poulsen, A. Vaag, Z. Stephan, T. D. Spector, Y. Z. Wu, C. Plass y M. Esteller, «Epigenetic differences arise during the lifetime of monozygotic twins», en *PNAS*, vol. 102, n.º 30, 26 de julio de 2005, pp. 10604-10609.

9. H. Heyn, S. Morán, I. Hernando-Herráez, S. Sayols, A. Gómez, J. Sandoval, D. Monk, K. Hata, T. Marqués-Bonet, L. Wang y M. Esteller, «DNA methylation contributes to natural human variation», en *Genome Res*, vol. 23, n.º 9, septiembre de 2013, pp. 1363-1372.

10. M. F. Fraga, E. Ballestar, A. Villar-Garea, M. Boix-Chornet, J. Espada, G. Schotta, T. Bonaldi, C. Haydon, S. Ropero, K. Petrie, N. G. Iyer, A. Pérez-Rosado, E. Calvo, J. A. López, A. Cano, M. J. Calasanz, D. Colomer, M. A. Piris, N. Ahn, A. Imhof, C. Caldas, T. Jenuwein y M. Esteller, «Loss of acetylation at Lys16 and trimethylation at Lys20 of histone H4 is a common hallmark of human cancer», en *Nat Genet*, vol. 37, n.º 4, abril de 2005, pp. 391-400.

11. A. Lujambio, S. Ropero, E. Ballestar, M. F. Fraga, C. Cerrato, F. Setién, S. Casado, A. Suárez-Gauthier, M. Sánchez-Céspedes, A. Git, I. Spiteri, P. P. Das, C. Caldas, E. Miska y M. Esteller, «Genetic unmasking of an epigenetically silenced microRNA in human cancer cells», en *Cancer Res*, vol. 67, n.º 4, 15 de febrero de 2007, pp. 1424-1429.

12. A. Lujambio, G. A. Calin, A. Villanueva, S. Ropero, M. Sánchez-Céspedes, D. Blanco, L. M. Montuenga, S. Rossi, M. S. Nicoloso, W. J. Faller, W. M. Gallagher, S. A. Eccles, C. M. Croce y M. Esteller, «A microRNA DNA methylation signature for human cancer metastasis», en *PNAS*, vol. 105, n.º 36, 9 de septiembre de 2008, pp. 13556-13561.

13. S. A. Melo, S. Ropero, C. Moutinho, L. A. Aaltonen, H. Yamamoto, G. A. Calin, S. Rossi, A. F. Fernández, F. Carneiro, C. Oliveira, B. Ferreira, C. G. Liu, A .Villanueva, G. Capella, S. Jr. Schwartz, R. Shiekhattar y M. Esteller, «A TARBP2 mutation in human cancer impairs microRNA processing and DICER1 function», en *Nat Genet*, vol. 41, n.º 3, marzo de 2009, pp. 365-370.

14. S. A. Melo, C. Moutinho, S. Ropero, G. A. Calin, S. Rossi, R. Spizzo, A. F. Fernández, V. Davalos, A. Villanueva, G. Montoya, H. Yamamoto, S. Jr. Schwartz y M. Esteller, «A genetic defect in exportin-5 traps precursor microRNAs in the nucleus of cancer cells», en *Cancer Cell*, vol. 18, n.º 4, 19 de octubre de 2010, pp. 303-315.

15. S. Guil, M. Soler, A. Portela, J. Carrère, E. Fonalleras, A. Gómez, A. Villanueva y M. Esteller, «Intronic RNAs mediate EZH2 regulation of epigenetic targets», en *Nat Struct Mol Biol*, vol. 19, n.º 7, 3 de junio de 2012, pp. 664-670.

16. J. Liz, A. Portela, M. Soler, A .Gómez, H. Ling, G. Michlewski, G. A. Calin, S. Guil y M. Esteller, «Regulation of pri-miRNA processing by a long noncoding RNA transcribed from an ultraconserved region», en *Mol Cell*, vol. 55, n.º 1, 3 de julio de 2014, pp. 138-147.

17. H. Heyn, E. Vidal, S. Sayols, J. V. Sánchez-Mut, S. Morán, I. Medina, J. Sandoval, Simó- L. Riudalbas, K. Szczesna, D. Huertas, S. Gatto, M. R. Matarazzo, J. Dopazo y M. Esteller, «Whole-genome bisulfite DNA sequencing of a DNMT3B mutant patient», en *Epigenetics*, vol. 7, n.º 6, 1 de junio de 2012, pp. 542-550.

18. H. Heyn, N. Li, H. J. Ferreira, S. Morán, D. G. Pisano, A. Gómez, J. Díez, J. V. Sánchez-Mut, F. Setién, F. J. Carmona, A. A. Puca, S. Sayols, M. A. Pujana, J. Serra-Musach, I. Iglesias-Platas, F. Formiga, A. F. Fernández, M. F. Fraga, S. C. Heath, A. Valencia, I. G. Gut, J. Wang y M. Esteller, «Distinct DNA methylomes of newborns and centenarians», en *PNAS*, vol. 109, n.º 26, 26 de junio de 2012, pp. 10522-10527.

19. J. Ausió, A. M. de Paz y M. Esteller, «MeCP2: the long trip from a chromatin protein to neurological disorders», en *Trends Mol Med*, vol. 20, n.º 9, septiembre de 2014, pp. 487-498.

20. J. V. Sánchez-Mut, E. Aso, N. Panayotis, I. Lott, M. Dierssen, A. Rabano, R. G. Urdinguio, A. F. Fernández, A. Astudillo, J. I. Martín-Subero, B. Balint, M. F. Fraga, A. Gómez, C. Gurnot, J. C. Roux, J. Ávila, T. K. Hensch, I. Ferrer y M. Esteller, «DNA methylation map of mouse and human brain identifies target genes in Alzheimer's disease», en *Brain*, vol. 136, n.º 10, octubre de 2013, pp. 3018-3027.

JUAN ORTÍN

MI CAMINO DESDE LA QUÍMICA A LA VIROLOGÍA

19

Hay momentos en la vida que son determinantes para el futuro profesional y personal de cada uno. En estas páginas me gustaría reflejar mis recuerdos sobre muchos de esos periodos, sobre las personas involucradas en ellos y sobre sus consecuencias para mi vida profesional.

La primera etapa formativa

Nací en Madrid, en la primavera de 1946, durante los difíciles tiempos de la posguerra española. Mi madre había nacido en Valencia, donde mi padre la conoció durante la Guerra Civil. Mi padre nació en Madrid y era cadete en la Academia Militar cuando empezó la guerra. Aunque estaba destinado en el Cuartel de la Montaña —el lugar donde hoy podemos visitar el Templo de Debod—, en ese momento se encontraba de permiso en Murcia, visitando a la familia de su padre. Por esta razón se libró de la masacre del Cuartel de la Montaña y pudo servir en el ejército republicano como oficial de transmisiones en el sureste español. Como otros muchos que militaron en el bando republicano, cuando finalizó la guerra fue juzgado, pero felizmente resultó absuelto, aunque perdió su condición de militar. A partir de ese momento mi padre tuvo que rehacer su vida, pero su gran inteligencia, su tesón y su capacidad de adaptación hicieron posible que, empezando como simple delineante, finalizara su vida profesional como uno de los directores de Ascensores Otis en España.

Mi familia vivió durante muchos años en la zona de Cuatro Caminos, y yo realicé mis estudios primarios y el bachillerato en el Colegio del Buen Consejo, regido por los Padres Agustinos y situado al final de la avenida de la Reina Victoria —junto al antiguo estadio Metropolitano—. Allí recibí una educación seria, basada en la moral cristiana, pero mucho más liberal y menos políticamente doctrinaria que en otros colegios e institutos de la época. Puesto que el colegio era privado y la situación económica de mi familia precaria, mis padres no podían sufragar mi educación sin una beca que les eximiera del pago de las tasas. Por ello, antes de iniciar el bachillerato tuve que superar un examen de acceso a la beca de gratuidad y después mantener las altas calificaciones necesarias durante todos mis estudios.

De aquellos tiempos me gustaría rememorar a dos de mis profesores. Por una parte, el profesor de inglés, un anciano padre agustino, enamorado de la enseñanza, que se pasaba los veranos en Inglaterra y hacía ímprobos esfuerzos para que pronunciáramos correctamente y habláramos en inglés durante la clase. Lo que él nos enseñó fue suficiente para que, poco después de terminar el bachillerato, me fuera durante un verano a trabajar a un restaurante en Inglaterra y sobreviviera en el intento. Más trascendente para mi vida profesional fue mi profesor de Química en cuarto de bachillerato. Su pasión por la asignatura y el carácter

didáctico de sus clases me hicieron decantarme por esa especialidad a la hora de escoger mis estudios universitarios posteriores.

En el mundo de la Química

Durante los siguientes cinco años fui alumno en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid. Como es habitual, el primer curso fue un choque para mí: un nuevo ambiente, clases magistrales de trescientos alumnos, casi todos desconocidos, y una total autonomía del alumno y falta de control por parte del profesorado. Las enseñanzas de mi padre sobre cómo organizar el trabajo y abordar el estudio fueron determinantes en aquel momento. A pesar de ello, solo pude superar el primer curso por los pelos, lo cual también tenía su mérito, porque entonces el primer curso era selectivo, es decir, había que aprobarlo completo para continuar la carrera.

De mis estudios universitarios recuerdo con especial alborozo Física, tanto la asignatura general como la Mecánica, que nos impartió don Luis Bru, uno de los más prestigiosos físicos españoles del siglo XX. También Química-Física, Espectroscopia, Mecánica Cuántica y, sobre todo, Química Orgánica. Finalmente, decidí seguir la especialidad en esta última, que incluía la asignatura de Bioquímica (en aquellos tiempos no existía aún la especialidad en esta materia). De los dos últimos años recuerdo con especial cariño los largos días de prácticas en los laboratorios de Química Orgánica con un grupo de compañeros, y hoy en día todavía amigos, y las sesiones de discusión sobre problemas de química que frecuentemente organizábamos. De aquella época me gustaría resaltar la labor de uno de mis profesores de Química Orgánica, don Ángel Alberola. El profesor Alberola era una persona seria y, en cierto modo, tímida que tenía un importante problema de dicción. Sin embargo, superaba esa limitación e impartía sus clases de Mecanismo de Reacciones Orgánicas con una claridad, entusiasmo y profundidad envidiables. En un momento en el que los catedráticos eran en general personas inaccesibles, el profesor Alberola hacía tan cercanas sus clases que frecuentemente se establecían discusiones con los alumnos —y éramos casi cien—. Nos sorprendía también su humildad y honradez intelectual. En más de una ocasión, ante una pregunta de un alumno, contestaba: «En este momento no puedo responder, pero estudiaré el tema». Y dedicaba la clase siguiente a analizar y solucionar el problema planteado. Tal era su prestigio que a principio de curso apareció entre nosotros un nuevo alumno. Se llamaba Friedemann y venía de Alemania. Pronto se unió a nuestro grupo de trabajo y, cuando le preguntamos cómo es que un alemán venía a Madrid a estudiar quinto curso de Química, nos respondió que el profesor Alberola era el mejor especialista europeo en su tema.

En la Facultad de Ciencias Químicas se requería tanto el examen de grado como la realización de una tesina de licenciatura para obtener el grado de licenciado. Yo llevé a cabo mi tesina en el Departamento de Bioquímica, que entonces dirigía don Ángel Martín Municio, una de las figuras clave de la bioquímica en España. Con la nota media de la carrera, del examen de grado y de la tesina, la facultad concedía el Premio Extraordinario de Licenciatura, pero en mi promoción sucedió que dos alumnos obtuvimos exactamente la misma nota media. Por ello, la facultad nos convocó a un examen ad hoc para dirimir

el premio. Como el otro alumno era de Química-Física, el examen incluyó preguntas de ambas especialidades, y para mi alegría pude obtener el citado premio.

Aprendiz de biólogo

Al finalizar la licenciatura tenía decidido hacer la tesis doctoral, y lo más fácil era continuar en el Departamento de Bioquímica donde había realizado la tesina. Aunque era una posibilidad muy razonable, yo no estaba convencido, porque el trabajo que veía a mi alrededor me parecía demasiado descriptivo. Aquel fue uno de esos momentos clave para mi porvenir profesional y se decidió por puro azar. Cuando un día volvía a casa desde la facultad me encontré en el autobús con Enrique Méndez, lamentablemente fallecido hace poco tiempo. Enrique era de la promoción anterior a la mía, pero le conocía porque su hermano había sido compañero de fatigas en las milicias universitarias. Enrique me contó que acababa de empezar su tesis en el Centro de Investigaciones Biológicas (CIB), en el grupo que acababan de iniciar Eladio Viñuela y Margarita Salas. Me comentó que venían del laboratorio de Severo Ochoa en Nueva York y que empezaban un trabajo muy interesante sobre biología molecular. De hecho, me dijo que Eladio daba una conferencia sobre el tema en la Facultad y allí me podría informar. En efecto, escuché a Eladio y me convencí de que aquello era otro mundo en la ciencia. Cuando me entrevisté con Eladio y Margarita y me aceptaron para hacer la tesis doctoral con ellos, tomé una decisión fundamental en mi carrera científica, que supuso cambiar de la química a la biología molecular y tener la ocasión de aprender lo que significa el trabajo en ese ámbito en la cuna de esta materia en España. Durante esos años tuve la suerte de compartir el laboratorio con estudiantes de la categoría de Enrique Méndez, Jesús Ávila, Antonio Talavera, Víctor Rubio, Galo Ramírez y José Miguel Hermoso (la primera generación de Eladio y Margarita), y posteriormente con José L. Carrascosa y Fernando Jiménez. Trabajar en aquel entorno fue duro pero muy estimulante y formativo. En los seminarios bibliográficos, Eladio nos enseñaba a destripar los *papers*, a entender las estrategias experimentales, el porqué de los controles (y sobre todo qué controles faltaban), a sacar las implicaciones menos obvias y a proponer hipótesis verificables en el futuro. Allí aprendí que el trabajo científico nunca se acaba, que las hipótesis no se pueden probar sino solo refutar y que una hipótesis que no se puede analizar experimentalmente no es útil para avanzar.

El objeto de nuestro estudio era el fago F29 («un fago pequeño, morfológicamente complejo, pero con un ADN de pequeño tamaño», tal y como rezaban las introducciones de los artículos de la época), del que se abordaron aspectos estructurales, biofísicos, genéticos, así como su interacción con el huésped. Mi proyecto de tesis dentro de este contexto fue estudiar la estructura general del genoma del fago, una molécula de ADN, y aunque formalmente mi tesis fue dirigida por Margarita, en las discusiones de trabajo tanto ella como Eladio criticaban los datos y sugerían nuevos experimentos. Durante bastante tiempo mi trabajo fue frustrante, dado que no era capaz de encontrar en el ADN de F29 ninguna de las características típicas de los genomas de otros fagos, pero finalmente encontré algo muy novedoso: el ADN viral estaba asociado covalentemente a proteína formando complejos que pude reconocer por microscopia electrónica y sedimentación. Para ello tuve la suerte de contar con la ayuda de César Vásquez, un profesor argentino que pasó unos meses por

el laboratorio y me enseñó a hacer preparaciones de ADN para observar con el microscopio electrónico. Con este apoyo pudimos demostrar que el genoma de F29 adoptaba estructuras circulares que se podían linealizar por tratamiento con proteasas.[1] Posteriormente, se encontraron situaciones similares en los genomas de adenovirus (ADN) y poliovirus (ARN), y se abrió la puerta al descubrimiento de un nuevo mecanismo de iniciación de la replicación de ácidos nucleicos que ha resultado ser bastante general.[2]

Al final de mi tesis, y durante el año posdoctoral que permanecí en el grupo de Eladio y Margarita, tuve el placer de compartir el laboratorio con José Antonio Melero, que empezaba su tesis sobre proteínas con afinidad por ADN en células transformadas en cultivo. Sus experimentos sobre el control del ciclo celular, junto con los de Manolo Perucho, me abrieron las perspectivas para plantearme pasar a los virus animales durante mi etapa posdoctoral.

El mundo exterior

Desde que terminé mi tesis tuve claro que mi siguiente paso sería realizar una estancia posdoctoral en el extranjero y que debía pasarme al mundo de los virus animales. Esto suponía un cambio técnico importante, viniendo del mundo de los fagos, pero me acercaba a problemas biológicos que tenían incidencia en la vida real. En aquellos tiempos estaba muy en boga el estudio de los llamados virus oncogénicos (SV40, adenovirus, etcétera), y ese era un campo atractivo, aunque muy competitivo, para mi periodo posdoctoral. A la hora de escoger mi futuro destino profesional también encontré el apoyo decidido de Eladio y Margarita. Ellos me comentaron que el profesor Walter Doerfler iba a iniciar su laboratorio en el Instituto de Genética de la Universidad de Colonia y me recomendaron que le escribiera. Walter era profesor en la Universidad Rockefeller y antes había trabajado en la Universidad de Stanford, usando adenovirus como sistema biológico. Cuando yo contacté con él estaba como profesor visitante en la Universidad de Upsala, en el grupo de Lennart Philipson, porque su nuevo laboratorio en Colonia estaba en obras. Gracias también al apoyo de César Vásquez fui aceptado por Walter, pedí una beca EMBO y, con esa financiación, me trasladé con mi familia a Colonia. En ese tiempo, Maleles, mi mujer, que es también doctora en Ciencias Químicas, tomó la difícil decisión de posponer su carrera profesional hasta nuestra vuelta a casa y dedicar esos años a cuidar de nuestros hijos, decisión que ellos y yo le agradeceremos siempre.

Mi estancia posdoctoral con Walter fue una época muy feliz, productiva e interesante científicamente, y muy formativa, tanto profesional como personalmente. Desde el punto de vista técnico tuve que enfrentarme con el mundo de las células de mamífero y con el del ARN, así como dar los primeros pasos en las técnicas de ingeniería genética (eran tiempos en los que teníamos que purificar nosotros mismos las enzimas de restricción a partir de estirpes bacterianas que conseguíamos de colegas, principalmente de Rich Roberts, que luego conseguiría el Premio Nobel). Científicamente abordé problemas de control de transcripción del genoma de adenovirus 12, uno de los serotipos oncogénicos.[3] Pero no solo aprendí mucho en cuestiones científicas y técnicas, sino que esos años fueron sumamente formativos en otros aspectos esenciales como las relaciones de la ciencia con el mundo, el manejo de un grupo de trabajo y otras cuestiones no científicas. Todo ello gracias a la

extraordinaria personalidad de Walter Doerfler. Walter es un científico riguroso, de gran visión y gran capacidad de trabajo, pero además es una persona con cualidades humanas excepcionales, gran cultura y carácter cosmopolita. Estas cualidades se reflejaban fielmente en su grupo de trabajo, una mezcla abigarrada de estudiantes, posdoctorales y técnicos de muy diversos países, incluyendo Estados Unidos, Indonesia, Holanda y España, en el que el idioma oficial era el inglés —algo muy poco común en la Alemania de la época—. De hecho, no recuerdo una conversación científica con Walter en alemán, y solo pude aprender el idioma cuando pedí a los estudiantes alemanes y a Monika Westphal, técnico de Walter y gran amiga, que solo me hablaran en alemán fuera del laboratorio. Tengo recuerdos excepcionales de algunos compañeros y amigos de entonces, como Ellen Fanning (Universidad de Vanderbilt, lamentablemente fallecida el año pasado), Harold Burger (Wadsworth Center), Ernst-Ludwig Winnacker (que fue presidente de la DFG), Karl-Heinz Scheidtmann (Universidad de Bonn), Dennis T. Brown (Universidad de Carolina del Norte) y Sian Tjia (Universidad de Colonia).

La capacidad de trabajo de Walter era proverbial. No paraba para comer y siempre volvía al laboratorio después de cenar. En aquella época tuve que hacer muchos experimentos cinéticos que me obligaban a estar en el laboratorio hasta altas horas y, en muchas ocasiones, Walter y yo aprovechábamos esos momentos de tranquilidad para charlar de los temas más variados, científicos y mundanos. Años después, cuando Walter y su mujer Helli nos han visitado en España, o en mi última visita a su casa familiar en Baviera, hemos seguido disfrutando de largas y agradables charlas hasta altas horas de la noche, abordando todos los temas imaginables. Walter era, y es, una persona enormemente respetada en todo el mundo, y esto se reflejaba en que los más relevantes científicos del mundo pasaban por Colonia para dar seminarios y visitar nuestro grupo. Walter nos hacía participar activamente en aquellas discusiones, y en las posteriores reuniones en su casa, y de ese modo pude conocer a personalidades como Ernest Winocour (Weizmann Institute), Lennart Philipson (que luego sería director del EMBL), Bernard Roizman (Universidad de Chicago), Dick Compans (Universidad de Emory) y Hans D. Klenk (Universidad de Marburg), entre otros muchos. Me gustaría hacer una mención especial a dos de ellos, Max Delbrück y Daniel Nathans, ambos premio Nobel, que me impresionaron por su sencillez y enorme accesibilidad.

De vuelta a casa

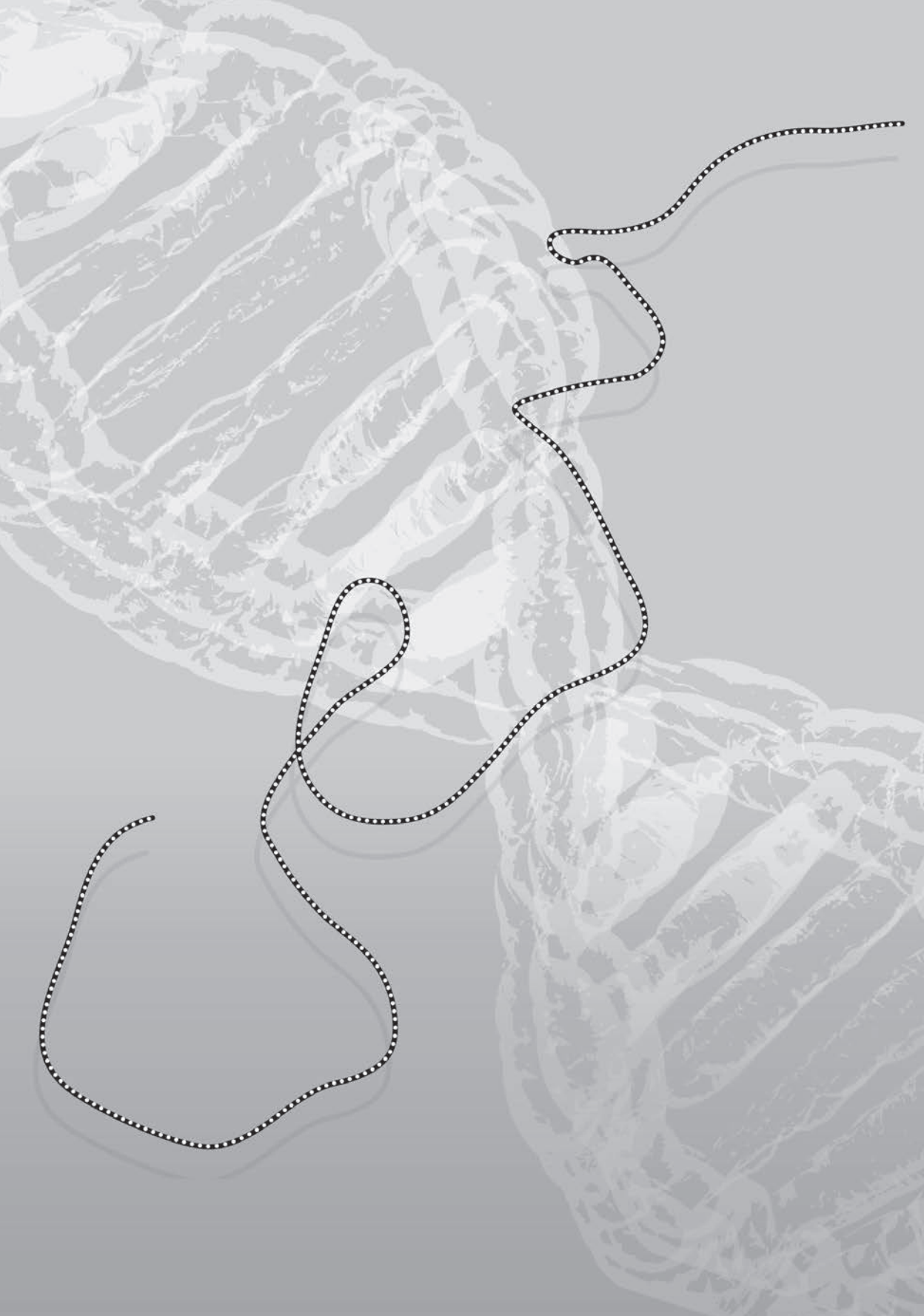
Durante mi estancia en Alemania, Eladio inició un nuevo proyecto de investigación para estudiar la biología del virus de la peste porcina africana (VPPA), el agente causal de una enfermedad devastadora en el cerdo doméstico que se había convertido en endémica en la península Ibérica y causaba graves perjuicios económicos. Dada mi reciente experiencia en adenovirus, le pedí incorporarme a su grupo pensando que podría aportar aspectos nuevos en su estudio. En el grupo de Eladio coincidí brevemente con Luis Enjuanes, que había sentado las bases del estudio del VPPA, ya que lo había adaptado a multiplicarse en células en cultivo y no solo en macrófagos, había puesto a punto su ensayo biológico y había purificado las partículas virales. Mi contribución se centró en el genoma viral, una molécula de ADN de gran tamaño. Pude mostrar que sus dos cadenas estaban unidas covalentemente, de manera similar a los poxvirus.[4] Sin embargo, el VPPA

requiere la presencia del núcleo celular para su multiplicación, a pesar de replicar en el citoplasma, una propiedad que le distingue de los poxvirus.[5] Estas observaciones fueron posteriormente verificadas y extendidas por el grupo de Eladio.

Durante aquellos años, Eladio estuvo muy implicado en la gestación y el establecimiento del nuevo Centro de Biología Molecular (CBM), uno de los hitos en la historia de la especialidad en España, y yo tuve que hacerme cargo del día a día en la gestión del grupo. Con ello, y mi aumento de experiencia, crecieron mis aspiraciones científicas y le propuse hacerme cargo de alguno de los muchos aspectos que podrían abordarse en la investigación sobre el VPPA. Ante esta propuesta, Eladio me aconsejó que yo mismo buscara mi nicho ecológico y planteara un proyecto de investigación completamente nuevo e independiente. Además de darme este sabio consejo, me sugirió que aunara esfuerzos con Esteban Domingo, que en ese momento trabajaba en el laboratorio de Margarita y también quería formar su propio grupo. Esteban acababa de publicar un artículo clave para entender la dinámica evolutiva de virus y juntos decidimos plantear un proyecto que estudiara la variación genética de virus que contienen genoma ARN, desde sus aspectos más mecanísticos a los más relacionados con la genética de poblaciones. Para ello propusimos usar dos sistemas biológicos diferentes y complementarios, el virus de la fiebre aftosa (picornavirus con genoma ARN de polaridad positiva) y el virus de la gripe (ortomixovirus con genoma ARN de polaridad negativa), que además tienen una gran relevancia en sanidad animal y humana. Durante más de diez años Esteban y yo compartimos el laboratorio 201 del CBM, junto con nuestros estudiantes, posdoctorales y técnicos. A pesar de la muy elevada densidad de población, fueron años de convivencia pacífica, compartiendo seminarios, nuevas experiencias y muy vivas y fructíferas discusiones científicas. Fue un placer trabajar con Mercedes Dávila y Conchi Martínez, técnicos de laboratorio que empezaron con nosotros; con los miembros del grupo de Esteban, Francisco Sobrino, Juan Carlos de la Torre, Nieves Villanueva, Encarna Martínez Salas, Mauricio García Mateu y Juana Díez; y con mis estudiantes, Lucía del Río, Agustín Portela, Susana de la Luna, José Ángel López de Turiso, Juan Valcárcel, Paula Suárez y Puri Fortes.

Durante este tiempo, mi grupo fue evolucionando hacia el estudio de las bases estructurales, bioquímicas y genéticas de la replicación del virus de la gripe, para poder analizar los mecanismos por los que el virus varía genéticamente. En una primera etapa sentamos las bases del problema de estudio analizando la variación genética de cepas naturales del virus de la gripe.[6] Por otra parte, establecimos los procedimientos experimentales para analizar la actividad de la ARN polimerasa viral, objeto de nuestro interés a largo plazo,[7] y analizamos las bases genéticas de la variación del virus.[8]

Entonces disfrutamos de una estrecha colaboración con José Antonio Melero, que, primero en Laboratorios Abelló y luego en el Instituto Carlos III, estudiaba la antigenicidad del virus de la gripe. Quiero hacer aquí una mención especial a Amelia Nieto, colaboradora científica del CSIC, que se unió a nuestro grupo a finales de los ochenta y con quien hemos trabajado desde entonces. Durante los primeros años, Amelia fue miembro de nuestro grupo y, más adelante, constituyó el suyo propio, pero esto no supuso nunca un problema para llevar a cabo una continua colaboración, para disfrutar de seminarios conjuntos y para contar con su apoyo científico y su consejo personal en todas las decisiones que he tomado durante décadas.



A finales de los años ochenta se gestó el nuevo Centro Nacional de Biotecnología (CNB), y sus entonces director y vicedirector, Michael Parkhouse y Víctor Rubio, me pidieron que optara a dirigir uno de los departamentos. Cuando me designaron jefe del Departamento de Biología Molecular y Celular fui partícipe y testigo de la organización científica del CNB, primero bajo la dirección de Michael y Víctor y, luego sucesivamente, bajo la dirección de José L. Carrascosa y de Mariano Esteban. Desde que nos trasladamos al CNB he disfrutado del trabajo en un centro puntero en España, con un ambiente estimulante y distendido.

Tres décadas con el virus de la gripe

La maquinaria de transcripción/replicación del virus y su funcionamiento

Para poder estudiar la maquinaria de replicación del virus de la gripe, iniciamos desde muy temprano nuestros esfuerzos para clonar y expresar en células de mamífero los genes virales implicados en el proceso, las tres subunidades de la polimerasa PB1, PB2 y PA, la nucleoproteína NP, así como la proteína reguladora NS1.[9,10] Al mismo tiempo desarrollamos sistemas de transferencia génica y, en colaboración con el grupo de Antonio Jiménez, nuevos marcadores seleccionables para células superiores. De hecho, el marcador de resistencia a puromicina[11] es todavía hoy uno de los más utilizados en todo el mundo.

Con esta experiencia y esta capacidad tecnológica a mano abordamos la reconstitución in vivo de sistemas recombinantes de replicación del virus de la gripe que nos permitieran diseccionar los mecanismos virales implicados. Así, en colaboración con Agustín Portela, que había constituido su propio grupo en el Instituto Carlos III, describimos estrategias para reproducir la maquinaria funcional de replicación en células no infectadas. Estos instrumentos nos permitieron abordar estudios de estructura-función de las subunidades de la polimerasa y de la nucleoproteína,[12] analizar la arquitectura del complejo heterotrimérico que constituye la polimerasa, así como localizar los dominios de la polimerasa que interaccionan con el ARN genómico.[13] Para ello, fue esencial la generación de colecciones de anticuerpos monoclonales específicos para las subunidades de la polimerasa y la nucleoproteína.

Llegados a este punto, se puso de manifiesto que, para poder ahondar en nuestro conocimiento sobre el proceso de replicación viral, era imprescindible obtener datos estructurales sobre la maquinaria responsable que nos ayudaran a proponer nuevas hipótesis y nos permitieran ensayarlas directamente. Dada la existencia en el CNB de uno de los grupos más potentes de microscopia electrónica y reconstrucción tridimensional, liderados por José L. Carrascosa, José M. Valpuesta y José M. Carazo, fue obvio para nosotros que debíamos establecer con ellos una estrecha colaboración para analizar la estructura de la polimerasa viral y el conjunto de la ribonucleoproteína (RNP) viral, la entidad biológicamente relevante en replicación y transcripción. A finales de los años noventa, uno de mis estudiantes, Joaquín Ortega, y uno de los posdoctorales de José L. Carrascosa, Jaime Martín-Benito, iniciaron una colaboración que ha persistido desde entonces y nos ha permitido liderar este tema mundialmente. Dado que las RNP virales son estructuras de 2-6 MDa y gran complejidad, Joaquín generó colecciones de mini-RNP, que eran más pequeñas pero plenamente funcionales in vivo e in vitro, para analizar su estructura mediante microscopia electrónica, y así se obtuvieron las primeras imágenes detalladas de la maquinaria viral.[14]

La aplicación de técnicas de reconstrucción tridimensional a partir de estos datos dio lugar a la primera estructura de una RNP biológicamente activa, incluyendo el complejo de la polimerasa, aunque con un nivel de resolución muy limitado,[15] y la estructura de la polimerasa dentro de la RNP fue diseccionada mediante análisis de complejos RNP-anticuerpo monoclonal.[16] Posteriormente, se determinó la estructura de la polimerasa libre o unida al ARN molde viral usando estrategias experimentales similares, en colaboración con Óscar Llorca,[17,18] la estructura de un dominio de la subunidad PB219 y, finalmente, se resolvió la estructura de la mini-RNP con crio-microscopia electrónica a una resolución de 12 a 18 Å.[19] Esta información ha sido hasta hace poco la más precisa disponible para cualquier RNP viral y ha permitido visualizar las conexiones entre los monómeros de nucleoproteína y el complejo de la polimerasa.

Aunque la mini-RNP recombinante es biológicamente activa, su estructura es diferente a la de las RNP completas presentes en la partícula viral. Más recientemente, y en colaboración con Jaime Martín-Benito, hemos determinado la estructura de estas RNP nativas mediante criomicroscopia electrónica y criotomografía, lo que ha permitido establecer que se trata de hélices levógiras con dos hebras antiparalelas de monómeros de nucleoproteína asociados al ARN genómico. En uno de los extremos de dicha doble hélice se asocia un complejo de la polimerasa, mientras que el otro contiene un lazo que permite el cambio de polaridad de la hebra. Este modelo estructural ayuda a interpretar una serie de procesos biológicos relativos a la transcripción y replicación viral, a la generación de partículas defectivas y al empaquetamiento ordenado de las ocho RNP virales dentro de la partícula viral y provee la base para elaborar nuevas hipótesis sobre el funcionamiento de esta máquina molecular.

La acumulación de datos estructurales, genéticos y bioquímicos[20,21] a los largo de estos años hizo posible que nos formuláramos preguntas específicas sobre los mecanismos que las RNP utilizan para transcribir y replicar el ARN genómico que incluyen. Así, nos preguntamos si la polimerasa presente en la RNP es responsable de la síntesis de los ARNm virales durante la transcripción o de las RNP progenie durante la replicación. Mediante experimentos de complementación in vivo utilizando sistemas de transcripción y/o replicación recombinantes pudimos proponer nuevos modelos que postulan un proceso de transcripción en *cis*, mientras que la replicación sería llevada a cabo en *trans* por una polimerasa diferente a la residente en la RNP paterna.[22,23] Además, el ensamblaje de la RNP progenie sería iniciado por una tercera polimerasa, diferente de la replicativa y de la asociada a la RNP molde, que se convertiría en polimerasa residente de la nueva RNP. Nuevos datos publicados por otros grupos apoyan, al menos en parte, estos modelos.[24]

Interacción de la maquinaria viral con la célula infectada

Otro de los aspectos que más me ha interesado a lo largo de mi estudio del virus de la gripe es la interacción de la maquinaria de transcripción con la célula infectada. Para abordar estos temas nuestro grupo usó sucesivamente las diferentes estrategias que se pusieron a punto para este tipo de análisis. Así, en una primera etapa utilizamos la técnica del doble híbrido en levaduras para identificar factores celulares que interaccionan con las subunidades de la polimerasa y con la proteína NS1. Esta proteína fue incluida en estos estudios porque habíamos acumulado evidencia clara de que interfiere con los sistemas de *splicing* celular[25,26] y viral,[27] afecta a la traducción y replicación viral[28] e interacciona con la maqui-

naria de transcripción-replicación del virus. El rastreo de una genoteca humana usando NS1 como cebo nos permitió identificar la proteína hStaufen,[29,30] homólogo humano de la proteína Staufen de *Drosophila melanogaster*. Con ello, tuvimos la oportunidad de estudiar tanto la función celular de esta nueva proteína como su papel durante la infección viral. La proteína hStaufen resultó esencial para la formación de gránulos de transporte de ARNm,[31] para el reconocimiento específico de una colección de ARNm celulares[32] y para la correcta ramificación dendrítica de neuroblastos humanos in vitro.[33] Contrariamente a nuestras expectativas, la proteína hStaufen no está implicada en los procesos de transcripción-replicación viral, sino en una de las etapas tardías de la infección, probablemente la encapsidación de las diferentes RNP en la partícula viral, de acuerdo con datos genéticos previos generados en nuestro grupo.

Inicialmente, el rastreo de una genoteca humana usando las subunidades de la polimerasa como cebo identificó la proteína hCLE, de la que prácticamente no había información en aquel momento. Su estudio, como el de las proteínas CHD también identificadas, ha sido tema de trabajo del grupo de Amelia Nieto durante estos últimos años y ha permitido conectar la maquinaria de transcripción-replicación viral con los procesos de remodelación de cromatina y epigenética celular. Más recientemente, abordamos la identificación de factores celulares implicados en la transcripción-replicación viral mediante la purificación de complejos intracelulares de la polimerasa recombinante o sus subunidades utilizando cromatografía de afinidad y análisis proteómico de los componentes celulares. De este modo se encontraron factores nucleares implicados en diversos procesos, así como también factores citoplásmicos que se asociaban establemente con la polimerasa viral.[34] Entre ellos, destacan las importinas alfa, que se asocian de manera diferencial a diversos virus gripales y son importantes para la actividad de la polimerasa[34] y el factor de *splicing* SFPQ, que no altera el *splicing* viral pero es esencial para que la polimerasa sintetice la cola de poli-A de los ARNm virales.[35]

Finalmente, también hemos abordado un análisis más general de la interacción del virus con la respuesta celular innata frente a la infección. Datos iniciales del grupo de Adolfo García-Sastre indicaron que la proteína NS1 es además un factor de bloqueo de la respuesta celular innata, y estos resultados fueron verificados después por nosotros y otros muchos grupos.[36] Por ello, últimamente llevamos a cabo abordajes genéticos utilizando técnicas de secuenciación masiva para analizar la relevancia de diversos dominios de la proteína NS1 y de otros genes virales para contrarrestar la respuesta inmune innata de la célula.[37] Estos estudios han permitido concluir que el virus gripal adapta todo su genoma a la existencia de la respuesta celular innata y sufre una deriva generalizada hacia nuevas secuencias óptimas cuando se libera de esa presión selectiva.

La Fundación Botín. Una nueva manera de entender el trabajo científico

Hace unos años tuve la agradable sorpresa de recibir la llamada de Pedro García Barreno para preguntar cuándo podría visitarme en el laboratorio. Yo conocía a Pedro de diver-

sas reuniones y porque además es hermano de Blanca García Barreno, del Instituto Carlos III, con quien he tenido el placer de colaborar en diversas ocasiones. Pero mi sorpresa fue mucho mayor cuando Pedro me visitó y empezó pidiéndome perdón por no haberme visitado antes y continuó informándome de que la Fundación Botín quería financiar mi investigación. Era la primera vez en mi vida que una institución me ofrecía financiación sin ni siquiera solicitarlo, y quiero agradecer profundamente a la Fundación Botín esta oportunidad.

Durante la agradable conversación posterior con Pedro, y después con Francisco Moreno, me informaron de qué es la Fundación Botín, de cuáles son sus objetivos generales y, en particular, los del Programa de Transferencia Tecnológica, en el que me invitaban a participar. A partir de ese momento pude abordar nuevas metas en mis trabajos y, sobre todo, hacerlo con otra mentalidad. Porque la ayuda de la Fundación Botín no fue solo económica, sino que fundamentalmente me permitió pensar en los experimentos de una manera diferente. A lo largo de mi carrera profesional me he encontrado muchas veces con discusiones sobre la (aparente) dicotomía entre «ciencia básica» y «ciencia aplicada» (también llamada «investigación traslacional» en biomedicina). Siempre he pensado que lo realmente importante es llevar a cabo una investigación novedosa y de calidad, y que las posibles aplicaciones serían consecuencia de lo anterior. Bien es cierto que si el científico de base no está ojo avizor sobre las posibles utilidades de sus hallazgos, es muy posible que se pasen por alto y se pierdan oportunidades. Pues bien, la Fundación Botín llamaba a mi puerta para justamente evitar esos problemas, para ayudar a tender puentes entre los resultados básicos y su posible uso para generar nuevos productos y procesos. En este punto aparece la figura fundamental del programa, el gestor de proyectos (en mi caso, Michael Tadros, a quien agradezco profundamente su labor con nosotros), que sistemáticamente se reunía con nuestro grupo para informarse de nuestros avances, aconsejar cuándo divulgar o no los resultados y ayudarnos a plantear posibilidades de colaboración con compañías potencialmente interesadas, siempre preservando nuestra iniciativa en cuanto a la temática a estudiar y los enfoques experimentales a usar.

En resumen, la Fundación ha operado con nosotros en temas de transferencia de conocimientos de una manera proactiva en lugar de reactiva. Con ello nos ha liberado de preocupaciones en ese sentido y nos ha permitido dedicarnos a lo que realmente sabemos y nos gusta hacer, sin perder oportunidades de transferencia de tecnología que podrían no haber sido obvias para un científico. Esta ha sido para mí una nueva manera de trabajar en ciencia, que me parece idónea y debería ser adoptada por las instituciones que realizan investigación científica en España.

Referencias

1. J. Ortín, C. Vásquez, E. Viñuela y M. Salas, «DNA protein complex in circular DNA from phage F29», en *Nat New Biol*, vol. 234, 1971, pp. 275-277.

2. M. Salas, «Protein-priming of DNA replication», en *Annu Rev Biochem*, vol. 60, 1991, pp. 39-71.

3. J. Ortín y W. Doerfler, «Transcription of the genome of Adenovirus type 12: I. Viral mRNA in abortively infected and transformed cells», en *J Virol*, vol. 15, 1975, pp. 27-35.

4. J. Ortín, L. Enjuanes y E. Viñuela, «Cross-links in the DNA of African swine fever virus», en *J Virol*, vol. 31, 1979, pp. 579-583.

5. J. Ortín y E. Viñuela, «Requirement of cell nucleus for African Swine Fever Virus replication in VERO cells», en *J Virol*, vol. 21, 1977, pp. 902-912.

6. J. Ortín, R. Nájera, C. López, M. Dávila y E. Domingo, «Genetic variability of Hong Kong (H3N2) influenza viruses: spontaneous mutations and their location in the viral genome», en *Gene*, vol. 11, 1980, pp. 319-331.

7. L. del Río, C. Martínez, E. Domingo y J. Ortín, «In vitro synthesis of full-length influenza virus complementary RNA», en *Embo J*, vol. 4, 1985, pp. 243-247.

8. P. Suárez y J. Ortín, «An estimation of the nucleotide substitution rate at defined positions in the influenza virus haemagglutinin gene», en *J Gen Virol*, vol. 75, 1994, pp. 389-393.

9. S. de la Luna, C. Martínez y J. Ortín, «Molecular cloning and sequencing of influenza virus A/Victoria/3/75 polymerase genes: sequence evolution and prediction of possible functional domains», en *Virus Res*, vol. 13, 1989, pp. 143-155.

10. A. Portela, J. A. Melero, S. de la Luna y J. Ortín, «Construction of cell lines that regulate by temperature the amplification and expression of influenza virus non-structural protein genes», en *EMBO J*, vol. 5, 1986, pp. 2387-2392.

11. S. de la Luna y J. Ortín, «The pac gene as an efficient dominant resistance marker and reporter gene for mammalian cells», en *Methods Enzymol*, vol. 216, 1992, pp. 376-385.

12. B. Perales, J. J. Sanz-Ezquerro, P. Gastaminza, J. Ortega, J. Fernández-Santarén, J. Ortín y A. Nieto, «The replication activity of influenza virus polymerase is linked to the capacity of the PA subunit to induce proteolysis», en *J Virol*, vol. 74, 2000, pp. 1307-1312.

13. S. González y J. Ortín, «Distinct regions of influenza virus PB1 polymerase subunit recognize vRNA and cRNA templates», en *EMBO J*, vol. 18, 1999, pp. 3767-3775.

14. J. Ortega, J. Martín-Benito, T. Zürcher, J. M. Valpuesta, J. L. Carrascosa y J. Ortín, «Ultrastructural and functional analyses of of recombinant influenza virus ribonucleoproteins suggest dimerization of nucleoprotein during virus amplification», en *J Virol*, vol. 74, 2000, pp. 156-163.

15. J. Martín-Benito, E. Area, J. Ortega, O. Llorca, J. M. Valpuesta, J. L. Carrascosa y J. Ortín, «Three dimensional reconstruction of a recombinant influenza virus ribonucleoprotein particle», en *EMBO Rep*, vol. 2, 2001, pp. 313-317.

16. E. Area, J. Martín-Benito, P. Gastaminza, E. Torreira, J. M. Valpuesta, J. L. Carrascosa y J. Ortín, «Three-dimensional structure of the influenza virus RNA polymerase: localization of subunit domains», en *PNAS*, vol. 101, 2004, pp. 308-313.

17. P. Resa-Infante, M. A. Recuero-Checa, N. Zamarreño, O. Llorca y J. Ortín, «Structural and functional characterisation of an influenza virus RNA polymerase-genomic RNA complex», en *J Virol*, vol. 84, 2010, pp. 10477-10487.

18. E. Torreira, G. Schoehn, Y. Fernández, N. Jorba, R. W. Ruigrok, S. Cusack, J. Ortín y O. Llorca, «Three-dimensional model for the isolated recombinant influenza virus polymerase heterotrimer», en *Nucleic Acids Res*, vol. 35, 2007, pp. 3774-3783.

19. R. Coloma, J. M. Valpuesta, R. Arranz, J. L. Carrascosa, J. Ortín y J. Martín-Benito, «The structure of a biologically active influenza virus ribonucleoprotein complex», en *PLoS Pathog*, vol. 5, 2009, e1000491.

20. D. Guilligay, F. Tarendeau, P. Resa-Infante, R. Coloma, T. Crepin, P. Sehr, J. Lewis, R. W. Ruigrok, J. Ortín, D. J. Hart *et ál.*, «The structural basis for cap binding by influenza virus polymerase subunit PB2», en *Nat Struct Mol Biol*, vol. 15, 2008, pp. 500-506.

21. P. Gastaminza, B. Perales, A. M. Falcón y J. Ortín, «Influenza virus mutants in the N-terminal region of PB2 protein are affected in virus RNA replication but not transcription», en *J Virol*, vol. 76, 2003, pp. 5098-5108.

22. P. Resa-Infante, N. Jorba, R. Coloma y J. Ortín, «The influenza virus RNA synthesis machine: Advances in its structure and function», en *RNA biol*, vol. 8, 2011, pp. 1-9.

23. N. Jorba, R. Coloma y J. Ortín, «Genetic trans-complementation establishes a new model for influenza virus RNA transcription and replication», en *PLoS Pathog*, vol. 5, 2009, e1000462.

24. A. York, N. Hengrung, F. T. Vreede, J. T. Huiskonen y E. Fodor, «Isolation and characterization of the positive-sense replicative intermediate of a negative-strand RNA virus», en *PNAS*, vol. 110, 2013, E4238-E4245.

25. P. Fortes, A. Beloso y J. Ortín, «Influenza virus NS1 protein inhibits pre-mRNA splicing and blocks RNA nucleo-cytoplasmic transport», en *EMBO J*, vol. 13, 1994, pp. 704-712.

26. J. Valcárcel, A. Portela y J. Ortín, «Regulated M1 mRNA splicing in influenza virus-infected cells», en *J Gen Virol*, vol. 72, 1991, pp. 1301-1308.

27. U. Garaigorta y J. Ortín, «Mutation analysis of a recombinant NS replicon shows that influenza virus NS1 protein blocks the splicing and nucleo-cytoplasmic transport of its own viral mRNA», en *Nucleic Acids Res*, vol. 35, 2007, pp. 4573-4582.

28. S. de la Luna, P. Fortes, A. Beloso y J. Ortín, «Influenza virus NS1 protein enhances the rate of translation initiation of viral mRNAs», en *J Virol*, vol. 69, 1995, pp. 2427-2433.

29. A. M. Falcón, P. Fortes, R. M. Marión, A. Beloso y J. Ortín, «Interaction of influenza virus NS1 protein and the human homologue of Staufen in vivo and in vitro», en *Nucleic Acids Res*, vol. 27, 1999, pp. 2241-2247.

30. R. M. Marión, P. Fortes, A. Beloso, C. Dotti y J. Ortín, «A human sequence homologue of staufen is an RNA-binding protein that localizes to the polysomes of the rough endoplasmic reticulum», en *Mol Cell Biol*, vol. 19, 1999, pp. 2212-2219.

31. P. Villacé, R. M. Marión y J. Ortín, «The composition of Staufen-containing RNA granules from human cells indicate a role in the regulated transport and translation of messenger RNAs», en *Nucleic Acids Res*, vol. 32, 2004, pp. 2411-2420.

32. S. de Lucas, J. C. Oliveros, M. Chagoyen y J. Ortín, «Functional signature for the recognition of specific target mRNAs by human Staufen1 protein», en *Nucleic Acids Res*, vol. 42, 2014, pp. 4516-4526.

33. J. Peredo, P. Villace, J. Ortín y S. de Lucas, «Human Staufen1 associates to miRNAs involved in neuronal cell differentiation and is required for correct dendritic formation», en *PLoS ONE*, 2014, en prensa.

34. P. Resa-Infante, N. Jorba, N. Zamarreno, Y. Fernández, S. Juárez y J. Ortín, «The host-dependent interaction of alpha-importins with influenza PB2 polymerase subunit is required for virus RNA replication», en *PLoS One*, vol. 3, 2008, e3904.

35 S. Landeras-Bueno, N. Jorba, M. Pérez-Cidoncha y J. Ortín, «The splicing factor proline-glutamine rich (SFPQ/PSF) is involved in influenza virus transcription», en *PLoS Pathog*, vol. 7, 2011, e1002397.

36. B. G. Hale, R. E. Randall, J. Ortín y D. Jackson, «The multifunctional NS1 protein of influenza A viruses», en *J Gen Virol*, vol. 89, 2008, pp. 2359-2376.

37. M. Pérez-Cidoncha, M. J. Killip, J. C. Oliveros, V. J. Asensio, Y. Fernández, J. A. Bengoechea, R. E. Randall y J. Ortín, «Un unbiased genetic screen reveals the polygenic nature of the influenza virus anti-interferon response», en *J Virol*, vol. 88, 2014, pp. 4632-4646.

MARÍA DOMÍNGUEZ

MI VIDA COMO UNA CIENTÍFICA (DE MOSCAS)

20

Uno de los aspectos más desafiantes de la ciencia es que revisa y amplía constantemente las hipótesis y ofrece nuevos descubrimientos y conceptos que desmienten la idea inicial. Revisando mi carrera y mis aportaciones veo que he contribuido a romper algún que otro «dogma» y he generado hipótesis nuevas que espero que hayan ayudado a otros a ampliarlas o a desmentirlas para formular nuevos conceptos. Mi interés se ha centrado en el crecimiento y la forma (morfogénesis). Cualquier aficionado al arte puede apreciar la estética que deriva de la proporción y la simetría. Pero cómo la proporción y la simetría en el ser humano y en otros animales emergen de la secuencia ordenada y precisa de los eventos biológicos durante el desarrollo, me sigue pareciendo un completo misterio. Ayudar a elucidar los factores que determinan el crecimiento correcto, la proporción y forma de los órganos y de las distintas partes del cuerpo es la motivación principal de mi investigación científica. Considero que este control es esencialmente genético, aunque no niego la implicación de factores ambientales como la nutrición en la determinación del tamaño; pero la forma está definida por los genes. Y qué mejor testimonio que el parecido entre padres e hijos. Hay rasgos, generalmente los menos atractivos, que se heredan inexorablemente de padres a hijos y a nietos como un «rasgo» familiar. Entender la base genética de este control además es relevante para comprender, diagnosticar y tratar enfermedades que afectan al crecimiento normal, y en particular al cáncer.

Soy la cuarta de cinco hijos y la única que me he dedicado a la ciencia. Mi padre es juez, ahora retirado pero activo en sus artículos y comentarios jurídicos, y mi madre, una mujer profundamente inteligente y dedicada a la crianza de sus hijos, tuvo un papel crucial en la carrera de mi padre y en nuestra educación, y con seguridad heredé de ella mis habilidades matemáticas y en el dibujo. Nací en 1965, en Alcántara, Cáceres, el pueblo de mis padres, abuelos y tatarabuelos. Cuando tenía cuatro años, nos mudamos a Valencia, y más tarde a Rota, un pueblo costero en la provincia de Cádiz. De allí nos trasladamos a Sevilla, donde cursé la carrera de Biología. Hubo otros ascensos y traslados, y creo que estos cambios de domicilio explican mi acento indefinido y también mi falta de arraigo o apego por un sitio en particular. Hice mi tesis doctoral en la Universidad Autónoma de Madrid (UAM), en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO), y me gradué como doctora en Biología en abril de 1993. Tras mi doctorado, pasé dos estancias posdoctorales, cada una de tres años y medio, primero en Suiza, en Zúrich, entre 1993 y 1996, y a continuación en Cambridge, entre 1997 y 2000. Volví a España en enero del 2000, al Instituto de Neurociencias de Alicante, donde aún permanezco. Mis influencias más importantes fueron los profesores Juan Modolell, Antonio García-Bellido, Peter A. Lawrence y Ernst Hafen. Me considero en deuda con ellos por sus numerosas críticas y apoyo.

Inicialmente estuve interesada por la química y en los últimos años de la carrera de Biología en Sevilla, entre 1986 y 1988, trabajé en el Departamento de Bioquímica, dirigido

entonces por el profesor Manuel Losada. De alguna manera, la bioquímica de la fotosíntesis me desencantó, y creo que yo tampoco destaqué allí especialmente, pero esos años me sirvieron para asimilar conocimientos y conceptos básicos del trabajo científico y afianzar mi interés por la investigación, pero en otros campos. En el último año de carrera, entre 1987 y 1988, cursé la asignatura de Biología del Desarrollo que impartía el profesor Enrique Cerdá Olmedo. Cerdá había sido el primer catedrático de Genética de la Universidad de Sevilla, y el fundador, en 1969, del Departamento de Genética. Fue un pionero en la utilización de la genética microbiana para descifrar mecanismos biológicos complejos. Sus contribuciones al conocimiento de la biología de las bacterias *Escherichia* y *Salmonella* y de los hongos *Phycomyces*, *Blakeslea*, *Fusarium* y *Saccharomyces* y sus aplicaciones biotecnológicas han sido numerosas y se han venido utilizando en los estudios de cientos de proteínas y complejos procesos biológicos. Enrique Cerdá era, y es, un excelente orador, culto, inteligente y, por qué no decirlo, extraordinariamente impertinente, aspecto poco apreciado por algunos de sus estudiantes. Nos instigaba continuamente, y en mí despertó un genuino interés por la biología del desarrollo, a la que he seguido «fiel» durante todos estos años.

Terminé mi licenciatura en junio, realicé el grado en septiembre y obtuve el premio de la Compañía Eléctrica Sevillana en 1988. Poco después empecé mi doctorado en Madrid. Sin ninguna duda, y aunque había peregrinado por varios laboratorios como alumna interna y haciendo prácticas, mi carrera científica empezó en el CBMSO, en el laboratorio de Juan Modolell, y bajo la atenta dirección de Sonsoles Campuzano. Desde entonces, y posiblemente hasta que me retire, he trabajado en *Drosophila*: soy, por convicción, una científica de moscas. Creo que este modelo animal experimental ofrece, como ningún otro, ventajas para encontrar las respuestas a ciertos problemas. En particular, la *Drosophila* es un organismo excepcional para el estudio de los mecanismos de control del crecimiento, como numerosas investigaciones demuestran. Sin embargo, y a pesar de las abundantes investigaciones y de la relevancia clínica de este control, aún estamos muy lejos de entender cómo las células de un órgano, el propio órgano y el organismo completo miden, ajustan y mantienen sus dimensiones. Durante años hemos estudiado estos problemas, aplicando la genética, la biología molecular, la bioquímica y la biología celular, y algo de ingenio.

En los ochenta, el laboratorio de Juan Modolell había publicado trabajos pioneros con los genes proneurales, en particular con un complejo génico que se denominaba achaete-scute, y que eran responsables del desarrollo de la mayoría de las quetas en la mosca. Estas quetas son órganos sensoriales y se disponen en un patrón específico que era modificado por ciertas mutaciones en este complejo muy difíciles de explicar. La genética de estas mutaciones las había estudiado Antonio García-Bellido, entre otros. Pero Juan Modolell fue el primero que aplicó la biología molecular para clonar y secuenciar estos genes. Mi tesis trató sobre el análisis del cuarto, y menos conocido gen del complejo achaete-scute, denominado asense. Nuestros estudios revelaron importantes diferencias entre este gen y los otros genes proneurales, y también en su regulación y función. Publicamos la mayor parte de la tesis en un artículo en el *EMBO Journal* en 1993, con Sonsoles y yo como únicas autoras. Esta escasa pero aparentemente notable producción científica me permitió acceder primero a una beca de la Fundación Areces, y poco después a una, muy prestigiosa, de la fundación del Human Frontier Science Program (HFSP).

Mis años en Madrid y mi experiencia en genética están inexorablemente ligados al grupo de Antonio García-Bellido, que entonces reunía a Marcos González Gaitán y Fernando Díaz Benjumea, sevillanos como yo, y a José Félix de Celis y Marco Milán, hoy científicos distinguidos. Antonio García-Bellido fue el presidente de mi tribunal de tesis, y mi relación con él ha sido desde ese día excelente.

Me trasladé a Zúrich en septiembre de 1993 y empecé a trabajar de posdoctorando en el laboratorio del profesor Ernst Hafen, en el Departamento de Zoología, que entonces estaba dirigido por el doctor Rüdiger Wehner, conocido por sus investigaciones en el sistema de navegación de las hormigas del desierto. No guardo gratos recuerdos de mi estancia en el laboratorio de Ernst Hafen, aunque paradójicamente fue una de mis épocas más felices. Quedé enamorada de Zúrich y de aquel entonces conservo excelentes amigos y colegas. Durante esos años trabajé incansablemente, y en la mayoría de los casos sola, por eso gran parte de mis trabajos de esta época son de primer autor. La mayoría de esas investigaciones se publicaron en revistas prestigiosas, y un artículo aparecido en *Science* en 1996 sigue siendo hasta hoy mi trabajo más citado. Estos hallazgos han tenido relevancia al descubrirse que tenían un impacto directo en procesos de trascendencia para la salud humana, como el cáncer. En esta época tuve el privilegio de conocer en Basilea al profesor Walter Gehring, donde Ernst Hafen había realizado su tesis. Más tarde, Gehring me invitó a varios de los mítines que organizaba sobre el desarrollo de la retina de *Drosophila*, y que me sirvieron para establecer contactos con otros investigadores que trabajaban con los genes Pax6, descubiertos por Gehring en la década de los noventa. Walter Gehring y su equipo descubrieron la red genética asociada a este factor responsable de la especificación de la retina y cómo el proceso estaba asombrosamente conservado a lo largo de la escala animal, a pesar de las diferencias morfológicas y ontogénicas de los distintos tipos de ojos. Nuevos análisis en la mosca descubrieron un par de genes Pax6-like relacionados y en los que trabajé intensamente durante mi primera etapa en Alicante. Estos hallazgos sobre la genética de los ojos me llevaron a coincidir a menudo con Gehring y a establecer una entrañable amistad con él. Su muerte en un accidente en 2014, poco antes de la reunión de investigadores (de moscas) en Creta, parece haber puesto un punto y aparte a una etapa de la investigación del control genético del desarrollo del ojo.

En el verano de 1996, en una reunión de la European Molecular Biology Organization (EMBO) en Heidelberg, conocí a Peter Lawrence, que quedó impresionado por ese trabajo y me ofreció continuar mis investigaciones en su laboratorio en Cambridge y de forma independiente. En enero de 1997 me mudé a Cambridge, donde permanecí más de tres años posdoctorales en el Medical Research Council-Laboratory of Molecular Biology (MRC-LMB). En Cambridge continué mis investigaciones sobre el papel de Hedgehog en el desarrollo temprano de la retina, y allí desarrollé la mayoría de las herramientas y moscas modificadas que más tarde me permitieron establecer mi grupo en Alicante. Trabajar en el MRC-LMB y en Cambridge fue un auténtico lujo que no aprecié en su justa medida hasta que me trasladé a Alicante.

En esa época trabajé sola, pero también colaboré con otros investigadores de Cambridge. Cabe destacar un trabajo en el MRC-LMB con Jonathan Wasserman, estudiante de Matthew Freeman, sobre la regulación y función de la vía oncogénica del EGF-R/Ras en pro-

liferación, supervivencia y diferenciación en la retina publicada en 1999 en *Current Biology*. Este artículo ha tenido gran impacto y es muy citado. En ese periodo también inicié la investigación en Notch y el crecimiento del ojo de *Drosophila*. Este ha sido el tema central de mis trabajos durante los últimos años, y han establecido la base de la actual línea de investigación en los mecanismos de cáncer y Notch. Ese primer estudio de Notch, una colaboración con José Félix de Celis, lo publicamos en *Nature* en 1998; y otros dos trabajos posteriores, uno en colaboración con la estudiante Florencia Cavodeassi y otro con Sonsoles Campuzano, mi supervisora de tesis, aportaron nuevas evidencias que consolidaban el modelo de crecimiento por organizador de Notch que habíamos propuesto, ampliamente aceptado hoy en día. Posteriores trabajos, realizados ya desde Alicante, y publicados, por ejemplo, en *Nature Genetics* en 2004, en *EMBO Reports* en 2009 y en *EMBO Journal* en 2011, han corroborado y extendido la hipótesis inicial.

En el año 2000 regresé a España tras obtener una plaza de científico titular del CSIC en el Instituto de Neurociencias (IN) de la Universidad Miguel Hernández (UMH) de Elche, en Alicante. El IN acababa de firmar un convenio con el CSIC. Carlos Belmonte, fundador y director durante muchos años del IN había reclutado al neurobiólogo madrileño Fernando Jiménez, motivado por sus hallazgos en la investigación del sistema nervioso en *Drosophila*. Desgraciadamente, Fernando murió de un ataque al corazón poco después de incorporarse al IN. Sus discípulos y yo heredamos el equipo y el espacio de laboratorio de Fernando. Físicamente, el IN estaba entonces situado en el edificio de departamentos de la UMH, en el campus de Sant Joan. Los laboratorios estaban bien equipados, pero distribuidos y aislados entre sí, lo que limitaba la interacción y colaboración entre los grupos. En 2004, el IN se mudó a un edificio propio y, en la actualidad, cuenta con más de veintiséis investigadores que trabajan en plasticidad neuronal, neuroprotección y neurorreparación, neurobiología molecular y de sistemas, migración neuronal, células gliales, memoria y aprendizaje, etcétera. El IN es hoy en día un centro de investigación dinámico y de prestigio internacional.

Al poco de empezar, en 2001, fui elegida miembro del programa de la EMBO para jóvenes investigadores de reconocida excelencia científica (EMBO-Young Investigator Programme). El programa aportaba más prestigio que financiación, pero nos ha permitido establecer redes y colaboraciones en España y Europa con otros jóvenes investigadores. En 2005 fui promocionada a investigadora científica del CSIC y en 2007 a profesora de investigación, y fui elegida miembro de la EMBO. Durante estos años tuve obligaciones administrativas (vicedirectora, de 2002 a junio de 2005) y fui miembro de la Comisión de Área de Biología y Biomedicina del CSIC (desde diciembre de 2004 hasta 2008), lo que me distrajo de mi verdadero objetivo, la investigación, pero que también me dio una visión más global del panorama científico español y de los enredos político-científicos.

Los inicios en Alicante no fueron fáciles, pero con el apoyo del director, Carlos Belmonte, pude continuar con mis investigaciones y mantener un alto nivel científico, publicando un primer trabajo (en colaboración) en *Nature*, en el año 2001, y tres años más tarde uno en *Nature Genetics*. Este artículo era el primero desde Alicante, y tuvo una reseña y fue portada de *News & Views* y fue elegido por *Faculty of 1000*. Siguiendo una línea de investigación más arriesgada que la de hasta entonces, creamos moscas modificadas o «humanizadas» en las

que introdujimos un gen humano con el objetivo de verificar los resultados en la mosca y desmentir así una idea inicial sobre un mecanismo oncogénico propuesto hacía años y analizado solo en células en cultivo. La secuenciación de los genomas de la mosca y el humano había determinado que más del 60% de los genes involucrados en enfermedades humanas y el 70% de los genes del ciclo celular y muerte celular (mecanismos muy ligados al cáncer) estaban conservados en la mosca. Generalmente, el genoma de la mosca es una versión simplificada del genoma humano; pero en este caso la mosca tenía cuatro versiones de los genes Pax6 (dos Pax6 canónicos y dos Pax6-like), mientras que el genoma humano tiene uno. Pero ese único gen Pax6 codifica para varias formas diferentes de la proteína, aunque solo la canónica se había considerado y estudiado. En 2004, la investigación de los genes Pax6 no canónicos sirvió no solo para describir de una forma nueva el desarrollo temprano del ojo en la mosca, sino también para entrever el alto grado de conservación que permite extrapolar principios básicos y generales usando modelos genéticos en moscas y poder proponer novedosos mecanismos de cáncer. Cuatro años antes, el estudio de la base del cáncer en moscas estaba reducido a unos pocos laboratorios en el mundo, aunque muchas investigaciones en mosca sobre el desarrollo habían servido para extrapolar estos descubrimientos a la comprensión de los mecanismos del cáncer en humanos. Este primer estudio de 2004 nos hizo plantearnos el estudio del proceso del cáncer en la propia mosca.

¿Qué podía aportar un insecto de apenas cuatro cromosomas y un ciclo de vida de once días para entender una enfermedad compleja como el cáncer, que en ocasiones se desarrolla a lo largo de años? Ya había importantes trabajos pioneros de cáncer en este organismo. Por ejemplo, en los años sesenta, Elizabeth Gateff y otros habían descrito tumores malignos de origen genético en la mosca, investigaciones que pasaron desapercibidas para numerosos investigadores del cáncer. Estos estudios pioneros evidenciaban la existencia de genes supresores de tumor y la importancia de la función antitumoral del sistema inmune. Nuestros trabajos en Alicante han mostrado, por ejemplo, el nexo entre causas del cáncer que hasta ese momento se consideraban independientes. Así, el cáncer era ya en 2004 considerado no solo una enfermedad cuyo origen se debía a anomalías genéticas, sino también a alteraciones epigenéticas de la expresión génica. La potencial reversibilidad de los cambios epigenéticos había conducido a una explosión de posibles terapias epigenéticas para el tratamiento del cáncer. En células normales, la herencia epigenética es esencial para mantener la memoria celular y ayuda a mantener la identidad celular y el mantenimiento de la pluripotencia y plasticidad de las células madre. Por ello, no es de extrañar que numerosos factores epigenéticos estén alterados en diferentes tipos de carcinomas invasivos, linfomas y leucemia. Pero debido a su importancia en las células sanas, una terapia que ataque estos factores debe estar basada en una mejor comprensión de cómo se inicia el cáncer a raíz de estos factores y de por qué esas alteraciones epigenéticas convierten las células sanas en precursoras del cáncer. Una de las investigaciones durante esos primeros años en Alicante, publicada en *Nature* en 2006, reveló una inesperada colaboración de Notch y las vías de silenciamiento epigenético en la iniciación y progresión tumoral. Esta investigación fue seguida por otros trabajos similares, y nos sirvió para establecer numerosas colaboraciones con investigadores del campo de Notch y la epigenética. El hallazgo de que los descubrimientos en la mosca estaban conservados en procesos tumorales en humanos nos sirvió para

consolidar el modelo de *Drosophila*. El trabajo de 2006 tuvo gran repercusión científica, no solo en *Drosophila*, y la investigación fue destacada en numerosas revisiones y elegida como «Exceptional» por *Faculty of 1000*. El trabajo estuvo varias semanas entre los top 10 de los artículos de investigación mundial de ciencias de la vida (cuarto puesto), y en el primer puesto en los artículos de biología del desarrollo. Las herramientas y método de cribado para interrogar el genoma de la mosca, y por el que establecimos el nexo entre Notch y la epigenética y otros mecanismos de cáncer en *Drosophila,* son utilizados por numerosos laboratorios del mundo. Estos trabajos incrementaron nuestra «visibilidad» internacional y supusieron un gran impulso para obtener recursos nacionales e internacionales, y privados. En particular, el convenio con la Fundación Botín.

En enero de 2007, y en colaboración con el equipo del doctor Adolfo Ferrando del Institute for Cancer Genetics de la Universidad de Columbia en Nueva York, Estados Unidos, publicamos la conexión entre la vía de Notch y la vía oncogénica de PI3K/AKT en la formación de leucemias en humanos y tumores invasivos en *Drosophila*. Actualmente, no hay tratamiento para este tipo de leucemias, que son particularmente agresivas cuando se desarrollan en la edad adulta. Las nuevas tecnologías «ómicas», combinadas con un análisis genético en animales intactos, pueden constituir una estrategia farmacológica preclínica de gran utilidad y eficacia para el desarrollo de nuevas herramientas terapéuticas en cáncer. Hace cuatro años, y en gran medida bajo el auspicio de la financiación de la Fundación Botín y un proyecto europeo, implementamos esta estrategia en el laboratorio, centrada en la metástasis y los tumores Notch-Akt, un tipo incurable. Las tecnologías «ómicas» son costosas y el desarrollo y cribado de compuestos es un proceso largo, incluso en animales de ciclo corto como la mosca. El desarrollo de esta estrategia ha ido unido a una simultánea toma de decisiones e interacción constantes con gestores de la Fundación Botín, que ha incrementado la eficacia y esperamos que contribuya a una forma más racional de explotar estos conocimientos.

A través de la Fundación Botín hemos comprendido la importancia de proteger los progresos en conocimientos que puedan tener aplicación. Son varios los modelos de cáncer de los que disponemos en el laboratorio, y varios los modelos en los que hemos probado el cribado sistemático (de alto rendimiento y extensivo) utilizando la mosca. El cribado sistemático es la fase más arriesgada en el descubrimiento de nuevos compuestos y fármacos, y la implementación y correcta utilización de la mosca podría constituir una alternativa preclínica valiosa.

En el año 2008, el premio Francisco Cobos de Investigación Biomédica reconoció esta investigación básica en el cáncer y supuso una gran motivación. Analizar los efectos y consecuencias del cáncer en la mosca genómicamente utilizando tecnologías «ómicas» nos llevó a otros descubrimientos inesperados, como el de la insulina 8 (ILP8), publicado en *Science* en el año 2012. Durante años habíamos puesto un énfasis exagerado en la importancia del control autónomo del crecimiento de los órganos y en la investigación del cáncer se habían utilizado cultivos celulares. Pero ni el cáncer ni el crecimiento de un órgano se producen de forma aislada (en una placa de Petri), sino en el contexto de un organismo completo. Cada órgano y cada parte del cuerpo debe crecer de forma armónica y

en proporción con las otras partes. Esto implica coordinación y comunicación mediante señales hasta el momento completamente desconocidas. Estas señales parecen también ser utilizadas durante los procesos oncogénicos. En 2012, el descubrimiento de la ILP8 en mi laboratorio fue clave para interpretar cómo los órganos en desarrollo median en esta comunicación. Las moscas deficientes para este péptido de la familia de insulina/IGF no pueden mantener el control de la proporción de los órganos, la simetría bilateral, y son más variadas en su tamaño final que sus congéneres silvestres. La falta de esta hormona produce animales que son diferentes en su tamaño final, desproporcionados y asimétricos. Numerosas enfermedades crónicas y problemas ambientales pueden retrasar el crecimiento y desarrollo de los niños y adolescentes, no solo provocando adultos de baja estatura, sino también incrementando el riesgo de desarrollar en la edad adulta diabetes, obesidad y enfermedades cardiovasculares. En muchos de los casos se da un crecimiento recuperador espontáneo (denominado *catch up*), que permite recuperar el crecimiento perdido y la adquisición de una estatura adulta próxima a la normalidad. En este trabajo encontramos que, en la mosca, numerosas condiciones que alteran el crecimiento activan la ILP8, que es responsable del crecimiento *catch up* y del desarrollo como un todo armónico. Este estudio no solo abre nuevas vías de investigación sobre las bases biológicas de ciertos problemas del crecimiento juvenil, sino que ha provocado un importante cambio de paradigma en el campo y muestra cómo los organismos son capaces de recuperase y producir adultos de una talla correcta incluso cuando se enfrentan con alteraciones, lesiones o problemas ambientales adversos. Nuevos hallazgos sobre el receptor de esta insulina (datos sin publicar) podrán explicar la forma de controlar estos procesos no solo durante el desarrollo del patrón corporal de la mosca y de otros animales más complejos.

En resumidas cuentas, los principales intereses en investigación han sido en la biología del desarrollo y el control genético del crecimiento, local y sistémico. De las búsquedas genéticas y de compuestos a los descubrimientos y al reconocimiento de estos, por todo ello me hallo en deuda con la Fundación Botín, y con miembros concretos de esta, que ellos bien saben a quién me refiero. Por su auténtico interés ante las necesidades específicas de los científicos y de su investigación y, sobre todo, por su deseo de que el proyecto conjunto fuera hacia delante durante estos cinco años.

Y también estoy en deuda con mi familia, principalmente con mi marido, con el que llevo tanto tiempo como años he estado investigando en *Drosophila*, por soportar con paciencia los muchos fines de semana y noches dedicadas al laboratorio o a la escritura de manuscritos o *grants*, y por abandonar su carrera para favorecer y apoyar la mía.

Publicaciones de los diez últimos años

M. Domínguez, «Cancer models in Drosophila», en *Semin Cell Dev Biol*, vol. 28, 2014, pp. 62-115. DOI: 10.1016/j.semcdb.2014.04.022

M. Domínguez, «Oncogenic programmes and Notch activity: An "organized crime"?», en *Semin Cell Dev Biol*, vol. 28, 2014, pp. 78-85. DOI: 10.1016/j.semcdb.2014.04.012

J. Morante, D. M. Vallejo, C. Desplan y M. Domínguez, «Conserved miR-8/miR-200 defines a glial niche that controls neuroepithelial expansion and neuroblast transition», en *Dev Cell*, vol. 27, n.º 2, 2013, pp. 174-187. DOI: 10.1016/j.devcel.2013.09.018. EPUB, 17 de octubre de 2013.

M. C. Mulero, D. Ferres-Marco, A. Islam, P. Margalef, M. Pecoraro, N. Drechsel, C. Charneco, S. Davis, N. Bellora, A. Toll, F. Gallardo, E. Asensio, E. López-Arribillaga, V. Rodilla, J. González, M. Iglesias, V. Shih, M. Alba, L. di Croce, A. Hoffmann, S. Miyamoto, J. Villa-Freixa, N. López-Bigas, B. Keyes, M. Domínguez, A. Bigas y L. Espinosa, «Chromatin-bound IκBα regulates a subset of Polycomb-target genes in differentiation and cancer», en *Cancer Cell*, vol. 24, n.º 2, 2013, pp. 151-66. DOI: 10.1016/j.ccr.2013.06.003. EPUB, 11 de julio de 2013.

V. G. da Ros, I. Gutiérrez-García, D. Ferres-Marco y M. Domínguez, «Dampening the signals transduced through hedgehog signal via microRNA miR-7 facilitates Notch-induced tumourigenesis», en *PLoS Biol*, vol. 11, n.º 5, 2013, e1001554. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001554. EPUB, 7 de mayo de 2013. PMID: 23667323. Seleccionado por *Faculty of 1000*, <http://f1000.com/prime/718058134>

A. Garelli, A. Gontijo, V. Miguela, E. Caparrós y M. Domínguez, «Imaginal discs secrete insulin-like peptide 8 to mediate plasticity of growth and maturation time», en *Science*, vol. 336, n.º 6.081, 2012, pp. 579-582. Selección del editor: A. M. van Hook, «Synchronizing Developmental Timing with Growth», en *Sci Signal*, vol. 5, 2012, ec129. Seleccionado por *Faculty of 1000 Must Read*, <http://f1000.com/prime/715847806>

P. Ntziachristos, A. Tsirigos, P. van Vlierberghe, J. Nedjic, T. Trimarchi, M. S. Flaherty, D. Ferres-Marco, V. G. da Ros, Z. Tang, J. Siegle, P. Asp, M. Hadler, I. Rigo, K. de Keersmaecker, J. Patel, T. Huynh, F. Utro, S. Poglio, J. B. Samon, E. Paietta, J. Racevskis, J. M. Rowe, R. Rabadán, R. L. Levine, S. Brown, F. Pflumio, M. Domínguez, A. Ferrando y I. Aifantis, «Genetic inactivation of the polycomb repressive complex 2 in T cell acute lymphoblastic leukemia», en *Nat Med*, vol. 18, n.º 2, 2012, pp. 298-301. DOI: 10.1038/nm.2651

A. M. Gontijo, V. Miguela, M. F. Whiting, R. C. Woodruff y M. Domínguez, «Intron retention in the Drosophila melanogaster Rieske iron sulphur protein gene generated a new protein», en *Nat Commun*, vol. 2, n.º 323, 2011. DOI: 10.1038/ncomms1328

D. Vallejo, E. Caparrós y M. Domínguez, «Targeting Notch signalling by the conserved miR8/200 microRNA family in development and cancer cells», en *EMBO J*, vol. 30, n.º 4, 2011, pp. 756-769. EPUB, 11 de enero de 2011.

R. Liefke, F. Oswald, C. Alvarado, D. Ferres-Marco, G. Mittler, P. Rodríguez, M. Domínguez y T. Borggrefe, «Histone demethylase KDM5A is an integral part of the core Notch-RBP-J repressor complex», en *Genes Dev*, vol. 24, n.º 6, 2010, pp. 590-601.

M. Domínguez, D. M. Vallejo, E. Caparrós *et al.*, «Mechanisms behind cancer metastasis: from *Drosophila* to humans and back», información sobre la Conferencia: XVI Conferencia Anual de la Sociedad Internacional de Desarrollo Biológico, Edimburgo, Escocia, del 6 al 10 de septiembre de 2009, en *Mech Dev*, vol. 126, S27-S27, suplemento, 2009.

F. J. Gutiérrez-Aviñó, D. Ferres-Marco y M. Domínguez, «The position and function of the Notch-mediated eye growth organizer: The roles of JAK/STAT and Four-jointed», en *EMBO Rep*, vol. 10, n.º 9, 2009, pp. 1051-1058. EPUB, 7 de agosto de 2009. PMID: 19662079.

M. Domínguez y F Berger, «Chromatin and Cell Cycle meet in Madrid», en *Development*, vol. 135, n.º 21, noviembre de 2008, pp. 3475-3480, informe de la reunión.

T. Palomero, M. Domínguez y A. A. Ferrando*, «The role of the PTEN/AKT Pathway in NOTCH1-induced leukemia», en *Cell Cycle*, vol. 7, n.º 8, abril de 2008, pp. 965-970. EPUB, 19 de febrero de 2009.

A. Gutiérrez y A. T. Look, «NOTCH and PI3K-AKT pathways intertwined», en *Cancer Cell*, vol. 12, n.º 5, noviembre

de 2007, pp. 411-413. PMID: 17996644.

T. Palomero, M. L. Sulis, M. Cortina, P. J. Real, K. Barnes, M. Ciofani, E. Caparrós, J. Buteau, K. Brown, S. L. Perkins, G. Bhagat, A. Mishra, G. Basso, R. Parsons, J. C. Zúñiga-Pflücker, M. Domínguez y A. A. Ferrando, «Mutational loss of PTEN induces resistance to NOTCH1 inhibition in T-cell leukemia», en *Nat Med*, vol. 13, n.º 10, 2007, pp. 1203-1210.

M. Domínguez, «Interplay between Notch and epigenetic silencers in cancer», en *Cancer Res*, vol. 66, n.º 18, 15 de septiembre de 2006, pp. 8931-8934.

D. Ferres-Marco, I. Gutiérrez-García, D. M. Vallejo, J. Bolívar, F. J. Gutiérrez-Aviñó y M. Domínguez, «Epigenetic silencers and Notch collaborate to promote malignant tumours by Rb silencing», en *Nature*, vol. 439, n.º 7.075, 2006, pp. 430-436. Artículo completo. Seleccionado por *Faculty of 1000*, <http://f1000.com/prime/1030489>

F. J. Gutiérrez-Aviñó, M. Cortina-Andrada, D. Ferres-Marco y M. Domínguez, «Notch signalling in tumorigenesis: A genetic screen in the Drosophila eye», en *J Neurogenet*, vol. 20, n.os 3 y 4, julio-diciembre de 2006, pp. 125-125.

«Highlights» en *Nat Rev Cancer*, vol. 6, n.º 3, marzo de 2006, pp. 170-171.

M. Domínguez y F. Casares, «The Organ Specification-Growth connection: new in-*sights* from the eye-antennal disc», en *Dev Dyn*, vol. 232, n.º 3, 2005, pp. 673-684.

M. Domínguez, D. Ferres-Marco, F. J. Gutiérrez-Aviñó, S. A. Speicher y M. Beneyto, «Growth and specification of the eye are controlled independently by eyegone and eyeless in Drosophila melanogaster», en *Nat Genet*, vol. 36, n.º 1, 2004, pp. 31-39. Seleccionado por *Faculty of 1000,* <http://f1000.com/prime/1016898>

R. S. Mann, «Two Pax are better than one», en *Nat Genet, News & Views*, vol. 36, 2004, pp. 10-11.

*M. L. Sulis y M. Cortina contribuyeron igualmente a esta labor.

JOSEP SAMITIER

MEMORIAS

21

El uso de la nanotecnología en el campo de la biomedicina no emergió realmente hasta finales del año 2000, cuando el presidente de Estados Unidos, Bill Clinton, inició una intensa campaña para promover el desarrollo de la investigación en nanotecnología con la conocida National Nanotechnology Initiative (NNI). En aquel momento, la evolución de la nanotecnología se planteaba desde dos enfoques diferentes: el enfoque de arriba hacia abajo, o cómo miniaturizar sistemas complejos, y el de abajo hacia arriba, o cómo construir materiales o dispositivos basados en el control individual de miles de átomos o moléculas. Y así también ha sido mi evolución personal y profesional, tanto de arriba hacia abajo como de abajo hacia arriba.

En el año 2000, cuando la administración Clinton inició la NNI, que tenía como objetivo promover el descubrimiento, el desarrollo y el despliegue de la ciencia, la ingeniería y la tecnología a nanoescala, la investigación experimentó una progresión natural que fue desde el estudio de los microsistemas a los nanosistemas. Por ejemplo, la electrónica evolucionó, para integrar más funciones en circuitos más pequeños, hacia tamaños a nanoescala. Durante unos quince años trabajé en el desarrollo de microsistemas basados en silicio, con el propósito de integrar diferentes funciones físicas y químicas «en un chip», como sensores de presión, acelerómetros, microbombas y diferentes tipos de sensores químicos integrados que, junto con la microelectrónica, nos podían llevar a obtener información relevante del entorno o de nuestro propio cuerpo. Así que esta progresión en la investigación hacia una reducción de las dimensiones, la capacidad de integrar más funciones y la reducción del tamaño de los circuitos, los sensores y las demás partes que trabajan en los sistemas permitió que mi carrera transitara de la microescala hacia la exploración de nuevas posibilidades en los sistemas funcionales de ingeniería en la nanoescala. Este fue el enfoque de arriba hacia abajo.

Casi al mismo tiempo, el planteamiento de abajo hacia arriba se centró en los principios básicos de la física y la química. Desde ese punto de vista, se tiene como finalidad controlar y modificar las propiedades de los materiales que se utilizan a nanoescala con la intención de construir nuevos sistemas complejos. Utilizando los mismos principios de ensamblaje de biomoléculas que vemos en los sistemas biológicos, podemos desarrollar superficies o estructuras en 3D con las moléculas y átomos organizados de la misma manera, usando potentes sistemas de microscopia, como el microscopio de fuerza atómica o el de barrido, para detectar las nuevas estructuras. Y así progresó mi carrera profesional, que en realidad había comenzado fuera de la física básica —en el campo de la electrónica—, desde un enfoque de abajo hacia arriba.

Alrededor del año 2000 se fusionaron estos dos enfoques, y eso provocó que fuera más fácil aplicar la nanotecnología a diversos ámbitos, porque si se desea utilizar la nanotecnología

para aplicaciones en el mundo real, es necesario integrarlas junto con dispositivos macro y micro en un sistema, como un teléfono móvil o un dispositivo médico. Para mí fue una progresión natural integrar la nanotecnología en el desarrollo de microsistemas utilizando los principios básicos de la física.

Al igual que la iniciativa de Clinton, ambos se originaron en Estados Unidos. El de abajo hacia arriba fue una iniciativa de químicos y físicos estadounidenses que ya estaban trabajando en ese campo y a la que se sumaron los europeos inmediatamente, empezando a integrar la nanotecnología para desarrollar sus propios sistemas.

La diferencia estaba en que en Europa, al contrario de lo que ocurría en Estados Unidos cuando la nanotecnología comenzó a emerger, surgió un sentimiento de desconfianza en la sociedad y la nanotecnología no fue bien recibida. En ese momento, el público europeo ya era muy sensible a todo lo que estuviera relacionado con la manipulación genética, que se percibía como una amenaza que podía poner en peligro la salud.

Aquí han provocado mucho revuelo varios libros en los que se exageraron las posibles amenazas de la nanotecnología, como el caso de la novela *Presa*, de Michael Crichton, publicada en 2002.

A pesar de que libros como *Presa* habían llegado desde Estados Unidos, allí la nanotecnología no despertaba el mismo sentimiento de desconfianza; o si lo despertaba, no era de una manera tan generalizada como en Europa. Tal vez porque las dudas y temores del público ya se habían abordado. En Europa, en cambio, había ciertos grupos minoritarios que hicieron reclamos aterradores acerca de los posibles peligros, y explicaban que partículas muy pequeñas producidas en grandes cantidades podrían terminar liberadas en la atmósfera e introducirse en el cuerpo y en las células. Que se tratase de partículas pequeñas (invisibles) pero inteligentes (capaces de seguir pautas preestablecidas) parecía ser lo que más preocupaba a la gente.

De hecho, en los primeros meses después de que mi laboratorio se trasladara desde las instalaciones de la Universidad de Barcelona al Parc Científic de Barcelona (PCB) en 2003, ya fuimos conscientes de este sentimiento negativo. Aparecieron algunos grafitis en las calles de los alrededores con mensajes como «¡Peligro! ¡Aquí trabajan en nanotecnología!». Por supuesto, nuestra responsabilidad era responder y tranquilizar a la gente, así que organizamos actividades de divulgación para explicar en qué consistía nuestra investigación, sobre todo para que se supiera que no había peligro, ya que los científicos trabajamos con un gran sentido de la responsabilidad en la minimización de riesgos.

Nos dedicamos a explicar a la sociedad que la nanotecnología no siempre implicaba trabajar con nanopartículas invisibles y aparentemente libres; más bien es una manera de controlar con precisión y manipular la materia a nivel nano. Las nanopartículas son simplemente un subelemento de la nanotecnología, y la mayoría de las veces, cuando se usan nanopartículas, son soluciones en el interior de un dispositivo, no en el aire.

Junto con el PCB también se potenció la nueva Plataforma de Nanotecnología que teníamos allí —que ahora está a cargo de la organización que hoy dirijo, el Institut de Bioenginyeria de Catalunya (IBEC)— y se explicaron las diferentes iniciativas a las que contribuía y de qué manera la nanotecnología podía ser beneficiosa para la salud y la sociedad, así como cuáles eran los riesgos reales. Pero estaba claro que algo había que hacer de forma coordinada con otros laboratorios para informar a los ciudadanos y que sirviera para conocer mejor qué se estaba haciendo y cómo evolucionaba la nanotecnología.

En 2003, la Comisión Europea aprobó Nano2Life, la primera red europea de excelencia en nanobiotecnología para aplicaciones biomédicas, dentro del Sexto Programa Marco. Su objetivo principal era coordinar los diferentes grupos y personas que trabajaban en nanotecnología en una única red de colaboración, pero también quería demostrar la utilidad de la nanotecnología en muchos ámbitos y lo importante que podría ser para los avances en medicina. Nano2Life fue la primera gran iniciativa europea, y poco después la Fundación Europea de la Ciencia también aprobó un documento relativo a la nanomedicina —que en ese momento era un nuevo término— centrado en la nanotecnología para la administración de fármacos. Estas fueron quizá las dos decisiones más importantes que condujeron a la coordinación y promoción de todas las actividades relacionadas con nano en el ámbito de la biomedicina en Europa, y que realmente anunciaron un cambio real en la percepción del público en general.

Hoy en día, la forma en que la sociedad percibe la nanotecnología es más positiva. Todos los proyectos e iniciativas relativos a la nanotecnología y sus ventajas, y que clarifican el verdadero alcance de sus riesgos, han dado sus frutos, de modo que la gente tiene una mejor comprensión de que los beneficios superan con creces los posibles riesgos. Aplicada a la medicina, se vio claramente que era un nuevo enfoque eficaz para desarrollar nuevos sistemas de diagnóstico y de terapia.

Mi relación con Nano2Life se remonta a su nacimiento, cuando éramos el único grupo español involucrado en la red de excelencia. En ese momento mi laboratorio de nanobioingeniería estaba en el PCB y fue parte precursora del IBEC. Nano2Life también involucró a personas y a grupos de países como Francia, Alemania, Israel, Suecia y Suiza, por lo que era una potente red paneuropea. La evolución de Nano2life condujo a la creación en 2005 de la Plataforma Tecnológica Europea de Nanomedicina.

Fuimos elegidos por nuestros colegas europeos como nodo representante de España en Nano2Life por diversas razones, a pesar de que por aquel entonces había varios grupos en el área de Barcelona y muchos otros en el resto del país que ya trabajaban en nanotecnología. Desempeñamos un papel decisivo en la creación de la Plataforma de Nanotecnología en el PCB, cuyo objetivo era ofrecer un equipamiento de última generación para la fabricación y caracterización de micro y nanodispositivos y estructuras para biomedicina con una voluntad de colaboración público-privada. Además estaba muy involucrado en la fundación y gestión de lo que después se convertiría en el IBEC, una organización de investigación que se dedicaría a este nuevo concepto de la nanomedicina, así como también a la bioingeniería. En aquel momento también habíamos firmado un acuerdo con la Fundación Europea de la Ciencia para desarrollar algunas escuelas de verano sobre nanomedicina en toda

Cataluña que, con el Instituto de Salud Carlos III, formaban parte de la comisión para crear un centro virtual nacional dedicado a la bioingeniería, biomedicina y nanomedicina que se convirtió en el CIBER-BBN.

En 2004, solo cuatro años después de que la nanotecnología comenzara a emerger realmente como una perspectiva en la investigación biomédica, Barcelona aparecía en diversos informes europeos como uno de los cinco grupos europeos más relevantes en nanobioingeniería. Fue asombrosa la rapidez con la que se acogió y se progresó en este campo en colaboración con muchos colegas, y la velocidad con la que ha sido capaz de empezar a generar resultados concretos que se pueden convertir en nuevos sistemas de diagnóstico o de terapia. Profesionalmente han sido años muy satisfactorios en los que me he centrado en la nanobioingeniería como campo de investigación. Siempre me he sentido atraído por temas y áreas de investigación que pudieran ofrecer un rápido crecimiento, progreso y cambio, como en el caso de la microelectrónica y las múltiples aplicaciones que se derivan. Toda mi carrera se ha basado en el uso de conceptos básicos, o en la investigación básica con un fuerte enfoque en aplicaciones para el mundo real, en ámbitos en los que se avanzaba muy rápidamente: microelectrónica, microsistemas, nanomedicina.

Esta fascinación comenzó cuando yo todavía era muy joven. No procedo de una familia científica o académica; de hecho, fui el primero en mi familia en ir a la universidad. Mis padres proceden de un pueblo muy pequeño de Cataluña que está a unos 100 kilómetros al sur de Barcelona, en el Penedés, donde mis abuelos eran agricultores. Después de que mis padres se casaran, a finales de la década de los cincuenta, se mudaron a la ciudad, porque para entonces el auge económico en España que se había iniciado tras el fin de la Guerra Civil, donde falleció mi abuelo materno en un campo de trabajo dejando a mi madre huérfana, ofrecía muchas más oportunidades.

Empecé la escuela primaria al mismo tiempo que mi padre encontró trabajo en el sector de la construcción. Entonces vivíamos en el apartamento del conserje de un edificio, cuyo propietario tenía a su cargo algunos de los principales proyectos de construcción en Barcelona. Cuando entré en la escuela, el hijo de este hombre empezó a estudiar Ingeniería, y de vez en cuando solía venir a contarme historias sobre la vida en la universidad y todas las posibilidades que ofrecía —incluidas algunas carreras entre estudiantes y policía—. Sonaba a un mundo fascinante, y no pude evitar que se me contagiase su entusiasmo. Por eso, con tan solo ocho años, yo ya decía a mi padre que quería ir a la universidad cuando llegara el momento. Otra cosa que también me influenció fue la llegada del hombre a la luna en 1969; lo vi en la televisión con mis padres, y aunque yo era muy joven en aquel momento, lo recuerdo con muchísima intensidad. Ya estaba empezando a interesarme por las cuestiones relativas a la materia, el universo y las reglas de la física.

En esa época, en España era muy difícil ir a la universidad, y no solo por el coste, sino porque la sociedad era muy clasista y la universidad estaba reservada a unos pocos. Sociológicamente, formo parte de la generación que, en los años setenta, sus padres obreros pudieron enviar con mucho esfuerzo a la universidad como una forma de mejorar su capacidad profesional. Cuando empecé la escuela secundaria demostré ser muy

bueno en ciencias —siempre me han atraído más que las humanidades— y era uno de los alumnos más destacados de la escuela, creo que en parte por la suerte de tener muy buenos maestros en Matemáticas y Física —ambas mujeres y excelentes docentes— que estimularon mi curiosidad. A esa edad, tener el profesor adecuado puede marcar una gran diferencia.

A los catorce años quería estudiar algo relacionado con las ciencias, matemáticas, tal vez, o incluso medicina. Al final me decanté por la física. Me pareció que era una buena manera de mantenerse en el área de las matemáticas y al mismo tiempo aplicar los conocimientos adquiridos para resolver problemas reales. En aquel momento ya estaba seguro de que quería seguir un camino que me permitiera no solo estudiar la teoría, sino también tener un enfoque en las aplicaciones del mundo real.

Mi madre se sorprendió un poco cuando decidí estudiar Física; recuerdo que me preguntaba insistentemente a qué me iba a dedicar después, ya que no veía la relación entre la carrera de Física y la profesión del futuro. De aquel tiempo también recuerdo que mis primeros días en la universidad coincidieron con el estreno de la película *Star Wars*, de George Lucas, y debido a eso, conceptos más a o menos relacionados con la física se hicieron muy populares.

Terminé la carrera en 1982, justo en el momento en el que se empezaba a trabajar en los primeros ordenadores personales de IBM. Durante mi último año de carrera usé un Commodore con disquetes y 128 kB de memoria, y aprendí los lenguajes de programación populares en aquel momento, como Basic y Fortran. Cuando conseguí mi primer disco duro de 5 MB fue como un milagro: cinco megas enteros. Recuerdo que pensé que sería imposible llenarlo.

Aunque yo quería entender los principios de la física, también aspiraba a tratar de relacionarlos con aplicaciones reales. Así que, en lugar de especializarme en física teórica, comencé a aplicarla a los materiales. He utilizado la física para poder entender las propiedades y características de los materiales y la materia y obtener mejores dispositivos. Cuando fui a hacer mi doctorado pasé algún tiempo, desde 1984 hasta 1985, como investigador visitante en el Laboratorio de Electrónica de Philips en París. En esa época ya estaba involucrado en el estudio de semiconductores compuestos de elementos de los grupos III y V de la tabla periódica, como arseniuro de galio, arseniuro de galio-aluminio o arseniuro de galio-fósforo, que han constituido la base para el desarrollo de dispositivos semiconductores láser y led. Los primeros artículos que publiqué versaban sobre este tema, con ledes rojos, verdes o blancos. En este sentido, me satisface que en el año 2014 se haya reconocido el trabajo de Isamu Akasaki, Hiroshi Amano y Shuji Nakamura, los creadores del led azul, con el Premio Nobel de Física.

Este es un ejemplo de lo que se hacía en aquel momento y que más tarde pasaría a integrarse dentro de la nanotecnología. Por aquel entonces no lo llamábamos «nano», pero ya estaba claro que la industria de los semiconductores ofrecía una aplicación potencial de este nuevo enfoque, por las propiedades que aparecen al realizar nanoestructuras mediante procesos de epitaxia que permiten cuantificaciones a nanoescala. Por ejemplo, para

desarrollar un láser utilizando semiconductores electrónicos se necesita producir nanoestructuras para apilar materiales con diferentes propiedades en los estados de energía que puede ocupar un electrón, poder realizar una inversión de población (los electrones ocupan los niveles de energía más altos dejando vacíos los niveles de energía inferiores) para conseguir producir el haz de fotones coherentes característicos del láser.

De modo que estábamos aplicando la mecánica cuántica para desarrollar dispositivos reales. Fue la primera oportunidad que tuve de utilizar los principios generales de la física con un objetivo y una aplicación determinada en mente.

El estudio de los materiales semiconductores que se utilizaba en electrónica evolucionó con una rapidez espectacular desde la década de los ochenta, y mi área de interés se trasladó rápidamente de los semiconductores compuestos al desarrollo de los microsistemas. Estaba centrado en tratar de integrar funciones mecánicas, como sensores de presión o acelerómetros, en el mismo chip que la microelectrónica. Justo en ese momento me involucré en un proyecto europeo con Robert Bosch GmbH, Fraunhofer y SEAT para desarrollar acelerómetros en 3D para los airbags, lo que me llevó a conseguir mis primeras patentes. Este proyecto contribuyó de manera importante para que los airbags se convirtieran en un estándar en la fabricación de automóviles en Europa. A este le sucedieron un número considerable de proyectos europeos dedicados a diversos desarrollos de microsistemas basados en el control y utilización de las propiedades superficiales o estructurales de materiales.

Poco después de eso, cuando la nanotecnología comenzó a emerger, era evidente que su avance sería muy rápido. Ya teníamos la capacidad de controlar los materiales y desarrollar nuevas tecnologías más precisas, por lo que la posibilidad de desarrollar nuevas aplicaciones e integrarlas en dispositivos del mundo real sería muy inmediata. También estaba claro que, en el campo de la medicina en particular, el uso y control de los materiales en el mismo rango que las células, bacterias, virus o biomoléculas permitiría el rápido desarrollo de nuevas aplicaciones que no habían sido posibles anteriormente.

Un mentor muy importante para mí fue Joan Ramón Morante, el director de mi tesis durante el doctorado sobre caracterización de materiales semiconductores. Después de la tesis continuamos trabajando juntos en ese ámbito durante un tiempo. Durante esos años se fundó el Centro Nacional de Microelectrónica (CNM), donde bajo la dirección de los profesores Francesc Serra Mestres y Emilio Lora Tamayo (actual presidente del CSIC) se ha desarrollado la investigación aplicada en microelectrónica en nuestro país.

Sin embargo, debo de reconocer que, más allá de las múltiples colaboraciones e influencias individuales, primero de mis profesores o tutores y después de mis colegas en proyectos de colaboración conjuntos, siempre me ha estimulado la posibilidad de crear estructuras que permitan afrontar retos científico-tecnológicos que van más allá del esfuerzo individual. El talento es personal, pero una buena institución científica puede servir para atraer ese talento y que afronte retos que no serían factibles si no hay un entorno de mutua ayuda.

En este sentido, el aprendizaje y el conocimiento de centros como el LEP de París, el CNM, el LAAS-CNRS de Toulouse, el CEA-Minatec en Grenoble, el Instituto Fraunhofer, el Max Planck, el MIT o Star Alliance en Singapur me han servido para tratar de utilizar las mejores estrategias para realizar investigación cooperativa.

Cuando conseguí un puesto permanente en la Universidad de Barcelona, después de mi estancia en París y un periodo de intercambio en el CNRS en Toulouse, empecé a progresar en el trabajo en microsistemas. En aquel momento estrenaba grupo de investigación y tenía mi primer estudiante de doctorado, y comenzamos a trabajar en la aplicación de microsistemas para fines biomédicos. Ese fue el inicio de mi cambio hacia la ingeniería biomédica.

El primer paso fue tratar de desarrollar microsistemas que utilizasen la dielectroforesis. El concepto se basaba en usar microelectrodos en un sistema microfluídico para aplicar campos eléctricos que pudieran atrapar o mover las células de una manera específica, para controlar las células dentro del microsistema o distinguirlas entre ellas, dependiendo de sus características. Primero lo hicimos con nanopartículas y, más tarde, con las propias células.

Otra aplicación de este nuevo concepto de «nano» se basaba en el control de la superficie de los materiales utilizando la nanotecnología para controlar el comportamiento del cultivo celular sobre esta. Queríamos saber cómo, modificando características superficiales como la topografía, o los enlaces químicos de superficie, podíamos definir o modificar la proliferación, la adhesión o la diferenciación de las células. De hecho, este ha sido uno de mis principales temas de investigación hasta el día de hoy.

En ese momento éramos socios de un importante proyecto europeo, el mayor proyecto integrado dentro de la prioridad en nanotecnología del Sexto Programa Marco de la Comisión Europea, que fue coordinado por el Instituto Fraunhofer de Ingeniería Biomédica en Alemania. El proyecto, que se llamaba «Programación celular de dispositivos a nanoescala» (CellPROM), tenía como finalidad el control de la diferenciación de las células de forma precisa y no invasiva. La oportunidad de trabajar con el director del Instituto Fraunhofer, el biofísico, profesor y doctor Günter R. Fuhr, fue también una influencia fundamental en mi actividad investigadora.

En aquel momento, la gestión y la dirección de proyectos formaban una parte cada vez más importante en mi carrera laboral. Mi laboratorio ya estaba involucrado en el desarrollo de nuevas tecnologías, como la litografía blanda y litografía de nanoimpresión, procesos y sistemas que podrían ser utilizados para gestionar la superficie o estructuras de polímeros u otros materiales. Esta fue la etapa previa a la fundación del IBEC en el 2005, cuando varios grupos de la Universidad de Barcelona y de la Universidad Politécnica de Cataluña se reunieron para formar una organización de investigación dedicada a la bioingeniería y a la nanomedicina.

En primer lugar, creamos una unidad mixta de investigación dentro de la Universidad de Barcelona dedicada a la bioelectrónica y a la nanobioingeniería, de la que formábamos parte Antonio Juárez, Daniel Navajas, Fausto Sanz y yo. Paralelamente, iniciamos colaboraciones

similares con la Universidad Politécnica de Cataluña, en concreto con Josep A. Planell (que llegaría a convertirse en el primer director del IBEC), Pere Caminal, Raimon Jané y Alicia Casal.

Yo era el investigador principal más joven que formaban parte de la unidad de investigación conjunta de la Universidad de Barcelona y, aun así, decidieron que debía ser el director. Mi involucración en la gestión del PCB fue una oportunidad para trasladar físicamente allí la unidad conjunta, y como la alianza de colaboración con la Universidad Politécnica de Cataluña también se mantuvo, pudimos combinar las dos entidades en la nueva ubicación física.

A raíz de la decisión de unir ambas organizaciones, el profesor Josep A. Planell, que era el director de la unidad de investigación equivalente dentro de la Universidad Politécnica de Cataluña, y yo trabajamos conjuntamente para solicitar al Gobierno catalán la creación del Centro de Referencia de Bioingeniería de Cataluña (CREBEC), el precursor del IBEC, como una red de colaboración estable.

El trabajo conjunto en el CREBEC nos llevó al desarrollo de la idea de establecer una estructura de investigación más sólida en forma de instituto con personalidad jurídica y de fundación privada sin ánimo de lucro dedicada a la investigación interdisciplinaria en bioingeniería y nanomedicina. Juntos preparamos la documentación y comenzamos las negociaciones con el Gobierno catalán y las dos universidades, que posteriormente fueron las entidades fundadoras del IBEC. Cuando estábamos involucrados en este proceso, la Universidad de Barcelona me ofreció el cargo de vicerrector de Políticas Internacionales, y acepté por compromiso institucional y por mi amistad con el rector Màrius Rubiralta, que había sido el impulsor y también director del PCB. De Màrius Rubiralta, que es un gran visionario de la gestión de la investigación, he aprendido la relevancia que la gestión de la política científica puede tener sobre el impulso y la mejora de las organizaciones de investigación. Cuando en abril de 2008 Rubiralta fue nombrado secretario de Estado, lo sustituí como rector en funciones de la Universidad de Barcelona.

Para mí era imposible seguir ejerciendo como investigador a tiempo completo y a la vez estar involucrado en estas posiciones de dirección, pero cuando mi compromiso con la universidad finalizó en 2008, tras perder las elecciones a rector de la Universidad de Barcelona por un estrecho margen de votos, tuve la oportunidad de volver a centrarme en el desarrollo de mi investigación en el IBEC, y a continuación implicarme en su impulso como director asociado. Para mí, la experiencia de gestor en la universidad de Barcelona, aunque corta, fue muy ilustrativa para entender los problemas que tiene la universidad de nuestro país, ver cómo ha evolucionado en los últimos años y la necesidad de introducir reformas en su organización para situarla al nivel de los países punteros europeos. Focalizar mi trabajo en el IBEC fue muy gratificante, ya que se trataba de una organización de investigación pequeña y ágil dedicada a mis áreas de interés, por lo que podía sentir de forma mucho más cercana la relevancia de la gestión de la investigación en el resultado de la organización y a su vez participar en ella.

Volver a la investigación no fue fácil, me había pasado más de tres años combinándolo con tareas de gestión y, por lo tanto, como investigador principal tenía que presentar nuevos proyectos, diseñar nuevas estrategias de investigación e introducir nuevos estudiantes de

doctorado e investigadores posdoctorales en el grupo, así como construir relaciones de colaboración con otros investigadores.

Fue en esta época cuando se me presentó la excelente oportunidad de colaborar con la Fundación Botín. En diciembre de 2008 recibí su visita y me ofrecieron la posibilidad de participar en un nuevo programa destinado a promover la investigación en los campos más aplicados de la ingeniería biomédica. La idea era que el programa no solo iba a financiar algunas de las investigaciones, sino que también ayudaría a aumentar nuestra conciencia y comprensión acerca de cómo se podría evaluar el conocimiento que se produce en un laboratorio de investigación para transferirlo en forma de patentes o tecnología, o para traducir las ideas e invenciones en un nuevo producto o servicio en beneficio de la sociedad. En ese contexto empecé a colaborar con la Fundación Botín, que puso a mi disposición excelentes gestores sobre temas de transferencia tecnológica, con el fin de analizar las nuevas ideas y los resultados obtenidos en mi laboratorio de nanobioingeniería del IBEC. Ese fue un proceso muy interesante y fructífero, y pese a que la colaboración formal terminó oficialmente a finales de 2013, hoy en día seguimos cooperando con la Fundación.

Aunque mi plan era centrarme tanto tiempo como me fuera posible en seguir construyendo y desarrollando mi grupo de investigación, algo inesperado cambió las cosas en 2013: el profesor Planell anunció su decisión de abandonar la dirección del IBEC para ser el rector de la Universitat Oberta de Catalunya (UOC). Era el momento adecuado para aceptar la oportunidad que se me ofrecía de convertirme en el nuevo director del IBEC.

Mi plan actual, al menos para los próximos ocho o diez años, es continuar guiando el crecimiento y la evolución del IBEC. Creo que para un instituto de investigación joven como el nuestro, este periodo de tiempo permitirá el desarrollo adecuado de una estrategia firme que nos posibilite establecer y construir nuestras actividades institucionales, así como lograr que nuestras líneas de investigación se desarrollen adecuadamente y maduren para convertirse en fuertes activos de la organización.

Continúo trabajando en la Universidad de Barcelona como profesor a tiempo parcial, he estado involucrado en el desarrollo y en el funcionamiento de algunos de sus programas de grado y de máster y la reciente graduación de la primera cohorte de estudiantes del grado de Ingeniería Biomédica, del que con el profesor Navajas fuimos sus impulsores, ha sido para mí un momento muy especial. Me gusta y quiero seguir participando en la enseñanza y la educación de la próxima generación de científicos, así como también en la organización y gestión de la investigación, la coordinación de los programas o el desarrollo de colaboraciones internacionales.

Sin embargo, cuando miro mi trayectoria profesional hasta la fecha, de lo que estoy más orgulloso es de haber intentado abrir nuevas líneas de investigación, ya sea en la Universidad o en el IBEC. Si tuviera que elegir el logro, patente, invención, descubrimiento o premio que me haya hecho sentir más orgulloso o satisfecho de mí mismo —cosa que es una tarea muy difícil, ya que el resultado más reciente es siempre el que te parece más interesante y es el que está más fresco en la memoria—, creo que elegiría tres momentos diferentes.

Uno memorable fue, en el comienzo de mi carrera profesional como investigador, cuando publiqué mis primeros trabajos en colaboración con Philips relativos al comportamiento de los materiales semiconductores para aplicaciones ópticas. Lo sentí como un paso muy importante, porque en realidad era la primera oportunidad que tuve para demostrarme a mí mismo que yo era capaz de desarrollar investigación real y de publicar resultados sólidos. Cuando empecé en la investigación, España no formaba parte de la Unión Europea, por lo que era difícil para un investigador español competir al mismo nivel con gente del Reino Unido, Alemania o Francia, sobre todo en ciencia aplicada. Así que esas primeras publicaciones forman parte del momento en que realmente pensé: «¡Sí, yo puedo hacerlo!».

El segundo se produjo cuando obtuve mi primera patente, que era para aplicaciones en automoción. Esta fue la prueba de que la investigación que estaba haciendo realmente tenía el potencial para hacer frente a problemas del mundo real, y que en un futuro incluso podría tener impacto en la sociedad.

El tercero es un momento mucho más reciente, de hecho, está sucediendo actualmente. Estamos haciendo muchas cosas interesantes en el laboratorio, como el desarrollo de «órganos en un chip» como plataformas para estudiar patologías o mejorar la obtención de fármacos, en el que hemos logrado un gran avance en 2014 con el primer «bazo en un chip» desarrollado en colaboración con investigadores del Centro de Investigación en Salud Internacional de Barcelona (CRESIB). Este tipo de investigación permite combinar microfluídica, biomateriales funcionalizados, biosensores y cultivos celulares en 3D para mimetizar la fisiología de un órgano. Por lo tanto, estoy integrando el conocimiento acumulado en mis líneas de investigación de los últimos años.

Hace más de doscientos años, un cirujano y físico catalán, Antoni Cibat i Arnautó, muy influenciado por las ideas de la Ilustración y los avances de Galvani y Volta en electrofisiología, escribió: «Sin los conocimientos de la física, la química y la botánica (farmacopea) nadie puede considerar que conoce plenamente la medicina y la cirugía». Hoy en día, con la introducción de la nanotecnología en biomedicina y con los avances en bioingeniería, esta afirmación es más valida que nunca.

Y mirando al futuro, una cosa que realmente me gustaría poder decir al finalizar mi carrera es que he logrado desarrollar un sistema de diagnóstico precoz útil para alguna patología relevante como el cáncer o las enfermedades neurodegenerativas. Aunque quizá la aportación más relevante pudiera ser que mi actividad como investigador y formador de investigadores haya servido para que una serie de jóvenes que han trabajado conmigo hayan desarrollado su potencial como científicos para hacer de nuestro país un país puntero en ingeniería biomédica y nanomedicina.

Publicaciones seleccionadas

A. Lagunas, A. G. Castaño, J. M. Artes *et al.*, «Large-scale dendrimer-based uneven nanopatterns for the study of local arginine-glycine-aspartic acid (RGD) density effects on cell adhesion», en *Nano Res*, vol. 7, n.º 3, marzo de 2014, pp. 399-409.

L. G. Rigat-Brugarolas, A. Elizalde-Torrent, M. Bernabéu *et al.*, «A functional microengineered model of the human splenon-on-a-chip», en *Lap Chip*, vol. 14, n.º 10, 2014, pp. 1715-1724.

I. B. Tahirbegi, M. Mir, S. Schostek, Sebastian *et al.*, «In vivo ischemia monitoring array for endoscopic surgery», *Biosens Bioelectron*, vol. 61, 15 de noviembre de 2014, pp. 124-130.

M. Barreiros dos Santos, J. P. Agusil, B. Prieto-Simón *et al.*, «Highly sensitive detection of pathogen Escherichia coli O157:H7 by electrochemical impedance spectroscopy», en *Biosens Bioelectron*, vol. 45, 15 de julio de 2013, pp. 174-180.

A. Lagunas, J. Comelles, S. Oberhansl *et al.*, «Continuous bone morphogenetic protein-2 gradients for concentration effect studies on C2C12 osteogenic fate», en *Nanomedicine: NBM*, vol. 9, n.º 5, julio de 2013, pp. 694-701.

A. I. Rodríguez-Villarreal, M. Arundell, M. Carmona *et al.*, «High flow rate microfluidic device for blood plasma separation using a range of temperatures», en *Lap Chip*, vol. 10, n.º 2, 2010, pp. 211-219.

J. G. Fernández, C. A. Mills y J. Samitier, «Complex Microstructured 3D Surfaces Using Chitosan Biopolymer», en *Small*, vol. 5, n.º 5, 6 de marzo de 2009, pp. 614-620.

E. Martínez, E. Engel, J. A. Planell *et al.*, «Effects of artificial micro- and nano-structured surfaces on cell behaviour», en *Ann Anat-Anat Anz*, vol. 191, n.º 1, 2009, pp. 126-135.

J. Fernández, G. Mills, A. Christopher, M. Pla-Roca *et al.*, «Forced soft lithography (IFSL): Production of micro and nanostructures in thin freestanding sheets of chitosan biopolymer», en *Adv Mater*, vol. 19, n.º 21, 5 de noviembre de 2007, pp. 3696-3701.

M. Castellarnau, A. Errachid, C. Madrid, *et al.*, «Dielectrophoresis as a tool to characterize and differentiate isogenic mutants of Escherichia coli», en *Biophys J*, vol. 91, n.º 10, noviembre de 2006, pp. 3937-3945.

J. M. Gómez, S. A. Bota, M. Santiago *et al.*, «Force-balance interface circuit based on floating MOSFET capacitors for micro-machined capacitive accelerometers», en *IEEE Trans Circuits Syst II: Express Briefs*, vol. 53, n.º 7, julio de 2006, pp. 546-552.

C. Rossi, B. Larangot, P. Q. Pham, *et al.*, «Solid propellant microthrusters on silicon: Design, modeling, fabrication and testing», en *J Microelectromech Syst*, vol. 15, n.º 6, diciembre de 2006, pp. 1805-1815.

J. Samitier, J. M. López Villegas, S. Marco *et al.*, «A new method to analyze signal transients in chemical sensors», en *Sens Actuator B-Chem*, vol. 18, n.º 1-3, marzo de 1994, pp. 308-312.

J. Samitier, J. R. Morante, L. Giraudet *et al.*, «Optical Behavior of the U band in relation to EI2 and EI6 levels in boron-implanted GaAs», en *Appl Phys Lett*, vol. 48, n.º 17, 28 de abril de 1986, pp. 1138-1140.

MARÍA A. BLASCO

LOS TELÓMEROS Y EL ORIGEN DE LA ENFERMEDAD

22

Resumo mi carrera científica en los siguientes veintiocho apuntes:

Tesis

1) Tras finalizar mi licenciatura en Ciencias Biológicas en la Universidad Autónoma de Madrid (UAM) en 1989, a la hora de realizar una tesis doctoral primé poder estar en un buen laboratorio frente a trabajar en el tema que me gustaba (cáncer y envejecimiento). Con Margarita Salas, en el Centro de Biología Molecular (CBM) (CSIC-UAM) en Madrid, investigué el problema de la replicación de los extremos de un genoma viral. Sin saberlo, estaba trabajando en los «telómeros» procariotas.

Posdoctorado

2) Cuando me planteé mi trabajo posdoctoral no sabía nada acerca de los telómeros, no fue un asunto que me hubiesen impartido durante la carrera, y además era un campo «poco popular». Los temas en boga eran entonces los supresores tumorales (p53 en cáncer), el ciclo celular y la biología del desarrollo.

3) Sin embargo, resultaba que los telómeros eran el mecanismo por el cual los organismos eucariotas resolvían el denominado problema de la replicación terminal (de los extremos), y además se había postulado en 1990 que los telómeros podrían desempeñar una función determinante en el envejecimiento y el cáncer.

4) Un colega del CBM, Crisanto Gutiérrez, me habló de Carol Greider, una mujer joven y enérgica que había encontrado, junto con Elizabeth Blackburn, la actividad telomerasa en el organismo modelo *Tetrahymena* y estaba estudiando los telómeros. Me decanté por incorporarme al laboratorio de Carol Greider en vez de al de Elizabeth Blackburn porque el de Carol se encontraba en el Cold Spring Harbor Laboratory (CSHL), en Nueva York (Estados Unidos), y sabía por Margarita Salas, que había hecho un curso en el CSHL, que dicha institución era la meca de la biología molecular. Además, Jim Watson, codescubridor de la estructura en doble hélice del ADN, era el director del CSHL.

5) En la fecha en la que me uní a su grupo, en 1993, Carol era muy joven, treinta y pocos años. Había pasado directamente de realizar su tesis doctoral a dirigir un grupo joven en el CSHL porque Jim Watson creía en la importancia de los telómeros para enfermedad y porque Barbara McClintock, que había descubierto los telómeros (en el maíz) en los años cuarenta del siglo XX, había realizado una parte de su carrera en el CSHL, donde trabajó hasta su muerte.

6) Solicité la beca posdoctoral de la European Molecular Biology Organization (EMBO) para ir a trabajar con Carol; esta beca era una de las más prestigiosas y de mayor dotación económica. Durante el proceso de selección eras entrevistado por un científico europeo. Mi entrevista la realicé con una investigadora alemana que trabajaba en hongos. Me dijo que había hecho una mala elección, que el campo de la telomerasa era aún muy incipiente, que Carol tenía todavía un grupo de investigación poco desarrollado, que ni tan siquiera se disponía de los genes clonados, y que, por lo tanto, mi proyecto era muy arriesgado y debería haber elegido trabajar en alguna materia que estuviese más avanzada, en algo más parecido a lo que había realizado con Margarita Salas. Sobra decir que encontré tales opiniones muy cortas de miras y enervantes. Así que la beca de la EMBO no me fue concedida, pero este revés no me desanimó lo más mínimo en mi determinación de ir a trabajar en la telomerasa con Carol. Años después fui galardonada con la Medalla de Oro de la EMBO, y tuve ocasión de referir la anterior historia durante la ceremonia de entrega.

7) En una biografía de Elizabeth Blackburn se recogen sus propias quejas por la falta de atención que recibió por parte de la comunidad científica el descubrimiento de la actividad telomerasa. Todos estaban interesados en el ciclo celular como claves del cáncer y en los genes que protegían del cáncer. Hubo que esperar hasta 1997 para que los *big names* del cáncer, David Beach, Robert Weinberg y Ronald DePinho, se interesasen por la telomerasa y los telómeros.

8) Solicité la beca posdoctoral del ministerio de turno. Esta solicitud estuvo a punto de ser denegada. Un colega me informó de que fue rechazada en primera instancia por los mismos motivos que la rechazó la EMBO pero, afortunadamente, él tuvo ocasión de aclarar que el grupo de acogida era un grupo muy bueno y que trabajaba en una disciplina muy novedosa y con mucho futuro. Me concedieron, pues, la beca para ir al CSHL.

9) Una vez en el CSHL, mi experiencia previa en biología molecular fue de gran importancia, ya que Carol carecía de ella en técnicas de clonaje y de ADN recombinante. Yo compré la primera enzima de restricción en su laboratorio. Mi proyecto de investigación era sumamente ambicioso. Tenía que clonar el gen de la telomerasa de ratón (solo estaba clonado el de *Tetrahymena*) y generar un ratón deficiente en telomerasa. Como yo ignoraba por completo cómo generar ratones *knock out* (KO), lo primero que hice fue acudir a un curso de embriología de ratón, donde aprendí cómo se generaban los ratones modificados genéticamente.

10) Clonar el gen de la telomerasa de ratón resultó ser muy difícil, ya que carecía de homología alguna con el de *Tetrahymena*. Corría el año 1994, y al final aislamos, en colaboración con la empresa Geron, un ARN que podría ser el gen de la telomerasa. Ese mismo año Geron también describió que la actividad telomerasa se encontraba aumentada en las células cancerosas. Con esta secuencia del putativo ARN de la telomerasa, aislamos el gen del ratón, y analizamos sus niveles de expresión en las células normales y en las cancerosas. Al observar que estaba altamente expresado en las células tumorales pero no en las normales[1], tuve la corazonada de que habíamos clonado el gen correcto. Además, detecté que el gen de la telomerasa se inhibía en tejidos adultos, al igual que la actividad. Todo indicaba que mi corazonada era correcta y que por fin teníamos el primer gen de la telomerasa de mamíferos. Denominamos al gen TERC (*telomerase RNA component*).[2] Me puse de inmediato

a generar el ratón KO. Corría prisa, puesto que, si el grupo de Carol no conseguía pronto el ratón, Geron lo desarrollaría también.

11) Generé el vector para delecionar el gen en la línea germinal en un tiempo récord, pero necesitábamos el equipamiento adecuado de microinyección de embriones para generar los ratones. El CSHL carecía de la infraestructura necesaria. Sucedió entonces que un investigador posdoctoral que trabajaba en el Albert Einstein School of Medicine con un tal Ronald DePinho, y que era amigo de Manuel Serrano, convenció a Manuel para que generase, en colaboración con Ron, el ratón KO de uno de los genes que Manuel Serrano había aislado en el laboratorio de David Beach en el CSHL, el gen p16. Manuel generó el KO de p16 en colaboración con Han-Woong Lee, un estudiante de tesis coreano que trabajaba con Ron.

12) Convencí entonces a Carol para entablar una colaboración con DePinho, ya que esta era la manera más rápida para obtener nuestro ratón KO y teníamos a Geron pisándonos los talones. Nos desplazamos un día a la Albert Einstein School of Medicine y convencimos a DePinho, que desconocía qué era la telomerasa, para que hiciésemos en colaboración los ratones KO para el gen candidato a ser el de la telomerasa.

13) Entre Han-Woong Lee y yo generamos un ratón que carecía de ese gen. El día más emocionante fue cuando observé por vez primera que los fibroblastos derivados de embriones sin este gen no tenían actividad telomerasa. Lo siguiente que hicimos fue reintroducir el gen que habíamos aislado en esas células sin actividad telomerasa y observamos que recuperaban dicha actividad: disponíamos por fin de un ratón que nos iba a ayudar a entender el papel de la telomerasa en cáncer y envejecimiento. Este trabajo se realizó entre 1995 y 1996.

14) Cuando Carol le contó emocionada los resultados anteriores a Titia de Lange, hicieron una apuesta. Titia de Lange era una colega de la Universidad Rockefeller que acababa de identificar la primera proteína que se unía específicamente a las repeticiones teloméricas, la llamada TRF1 (*telomere repeat binding factor 1*), el primer componente aislado de un complejo de seis proteínas, hoy en día conocido como shelterina. Titia opinaba que la telomerasa no sería necesaria ni para la vida ni para el sexo —refiriéndose a la fertilidad («*not for life nor for sex*»)—, mientras que Carol pensaba que podría ser esencial para la vida. La apuesta consistía en una caja de cerveza. Ganó Titia, al menos en parte. Nos encontramos con que los ratones KO para la telomerasa eran viables y que no presentaban grandes patologías. Durante un seminario que impartí en el CSHL para presentar la generación del ratón KO, Jim Watson exclamo: «¡Pero esto es un desastre!», refiriéndose a que su apuesta por la importancia de los telómeros entonces había resultado errónea. Pero era solo una cuestión de tiempo. En cierto modo, la viabilidad de los ratones era esperable, ya que mientras los telómeros fuesen suficientemente largos quizá no haría falta telomerasa para la vida. Para forzar que fueran cortos creamos generaciones crecientes de los ratones sin telomerasa. Tuvimos que llegar hasta la sexta generación para observar los fenotipos de envejecimiento en ratones muy jóvenes.[3] En mi grupo observamos que si introducíamos la deleción en un fondo genético con telómeros más cortos, entonces tras el transcurso de solo tres generaciones ya se alcanzaba la longitud telomérica crítica y se manifestaban los fenotipos de envejecimiento.[4] Ahora sabemos que incluso en la

primera generación de ratones sin telomerasa se produce un envejecimiento acelerado que conduce a unas vidas media y máxima más cortas de lo normal.

Grupo de investigación propio

15) Regresé a España en 1997 al Centro Nacional de Biotecnología (CNB) del CSIC, en Madrid, donde inicié mi grupo de investigación. Mi primer trabajo una vez establecida allí fue completar lo que quedaba pendiente para poder publicar la descripción del ratón KO para la telomerasa. Un punto crucial fue poder determinar si los telómeros se acortaban y, en su caso, si dicho acortamiento resultaba en la aparición de aberraciones cromosómicas. Esto era clave para demostrar si la telomerasa era la enzima que mantenía los telómeros en mamíferos (hasta entonces solo se había demostrado en organismos unicelulares), y si el acortamiento de los telómeros producía aberraciones cromosómicas. Comencé una colaboración con Peter Lansdorp, que había desarrollado una técnica para medir telómeros basada en FISH (hibridación de fluorescencia in situ), el llamado *quantitative telomere FISH* o Q-FISH, para llevar a cabo los análisis anteriores. Los resultados fueron verdaderamente espectaculares y conseguimos por primera vez demostrar que los telómeros se acortaban de manera acelerada en estos ratones sin telomerasa y, por lo tanto, que la telomerasa era la actividad enzimática responsable del mantenimiento de los telómeros en mamíferos. Carol aceptó incluir los datos en el artículo. Fue mi primera publicación desde España en la revista *Cell*.[5]

TERT

16) En 1997 se publicó también por primera vez el aislamiento del gen del componente proteína de la telomerasa de humanos, TERT, por los grupos de Bob Weinberg y Tom Cech. En 1998, desde Madrid, publicamos el aislamiento del gen del componente proteico de la telomerasa de ratón.

17) En el año 2000 publicamos un trabajo muy esclarecedor acerca de cuál es el papel de los telómeros en cáncer.[6] Demostramos por vez primera que los telómeros cortos actuaban como potentes mecanismos supresores del cáncer, de tal modo que los ratones sin telomerasa y con telómeros cortos tenían una menor tasa de cáncer. Esta fue la primera validación en modelos animales de que la telomerasa podría ser una buena diana contra la cual diseñar fármacos contra el cáncer.

18) En 2001 publicamos la generación del primer ratón transgénico para TERT. Este modelo de ratón nos permitió demostrar que la expresión de telomerasa de manera constitutiva en ratones adultos podría favorecer la aparición del cáncer con el envejecimiento, explicando por qué la telomerasa se reprime en los tejidos adultos tras el nacimiento.

19) También en 2001, y en paralelo con el grupo de Carol, publicamos un trabajo seminal[7] para lo que después ha sido uno de los temas más característicos y distintivos de mi grupo de investigación. Demostramos mediante la activación de manera genética de la telomerasa que el rescate de los telómeros cortos en un ratón sin telomerasa, y que iba a presentar patologías asociadas al envejecimiento, evitaba el desarrollo de dichas patologías de enve-

jecimiento (infertilidad, fallo medular, atrofia intestinal o anemia) y confería, además, una supervivencia normal a los ratones.

Biología de los telómeros

20) En los años posteriores, mi grupo se diversificó para abarcar el estudio de distintos aspectos de la biología de los telómeros, entre los cuales están la interacción entre la maquinaria de reparación del ADN y los telómeros. Demostramos, por una parte, que los telómeros cortos interferían con la reparación correcta de las roturas en el ADN, aumentando la radiosensibilidad. Asimismo, demostramos también que ciertas proteínas implicadas en la reparación, Ku o DNAPK, entre otras, desempeñaban una función importante en la protección de los telómeros. Ahora es algo aceptado pensar que los telómeros cortos o desprotegidos son equivalentes a una rotura en el ADN que no se puede reparar, un daño persistente.

21) Mi grupo fue también pionero en caracterizar la naturaleza de la cromatina de los telómeros de mamífero y, en concreto, su naturaleza heterocromática, así como en la identificación de las actividades de modificación de la cromatina importantes para el establecimiento de la cromatina telomérica. Entre ellas identificamos las HMTasas, las DNMTasas o DICER.[8-12] Todos estos trabajos condujeron a un modelo según el cual los telómeros, cuando perdían su naturaleza heterocromática, eran alargados con mayor facilidad, bien por la acción de la telomerasa o bien por los mecanismos alternativos de recombinación.

22) La comprensión de la naturaleza y regulación de la cromatina de los telómeros nos llevó a uno de los descubrimientos más sorprendentes. Observamos que los telómeros se transcribían, generando unos ARN largos y no codificantes que, además, se unían a los telómeros de prácticamente todos los cromosomas.[13] Más recientemente, hemos identificado las proteínas que se unen a estos ARN, llamados TelRNA o TERRA,[14] lo cual a su vez nos ha permitido su enriquecimiento y lograr la identificación, mediante técnicas de secuenciación masiva, de su sitio de origen.[15] La identificación del locus de TERRA nos permitirá finalmente elucidar su función en el desarrollo normal y en distintas patologías, a través de la generación de ratones modificados genéticamente.

Las proteínas de unión a los telómeros y su importancia en cáncer y envejecimiento

23) A los telómeros se une un complejo conocido con el nombre de shelterina formado por seis proteínas, que desempeñan diversos papeles en la protección de los telómeros y en la regulación de la telomerasa. Mi grupo ha generado durante los últimos años una serie de modelos de ratón de ganancia o de pérdida condicional de función para todos los componentes de shelterina con el fin de estudiar su importancia en cáncer y envejecimiento.

Así, mi grupo empezó generando el primer ratón transgénico con niveles elevados de la shelterina TRF2[16] y demostró que esta proteína telomérica tenía una función importante en cáncer y envejecimiento, a la vez que desveló la existencia de una interacción genética entre TRF2 y la

ruta NER de reparación de escisión de nucleótidos.[17] Posteriormente, mi grupo ha generado modelos murinos de deleción condicional de las shelterinas TRF1, TRF2, RAP1, TPP1 y TIN2.

Nuestros estudios funcionales de los modelos con expresión alterada de las shelterinas TRF1[18] y TPP1[19] nos permitieron descubrir que estas dos shelterinas son responsables del envejecimiento prematuro y del riesgo aumentado de cáncer, lo que constituye la demostración por vez primera de que una proteína telomérica puede actuar simultáneamente como un supresor de tumores y como un agente antienvejecimiento.

Más recientemente, y por completo inesperado, hemos hallado que la shelterina RAP1, además de unirse a las repeticiones teloméricas, también se une a sitios extrateloméricos y regula la expresión génica,[20] lo que proporciona una conexión novel entre los telómeros y los programas de expresión génica. Más aún, descubrimos que RAP1 desempeña una función muy relevante en el metabolismo, ya que regula la expresión del eje PGC1α/PPARa y de esta manera protege frente al síndrome metabólico y la obesidad gracias a su papel extratelomérico en la regulación de la expresión génica.[21]

En un estudio publicado el año pasado comunicamos la identificación de POT1 como la primera proteína telomérica en estar mutada en el cáncer humano, favoreciendo la adquisición de los rasgos de malignidad en las células de la leucemia linfocítica crónica,[22] como una mayor longitud telomérica y una mayor inestabilidad cromosómica.

Finalmente, la generación de modelos de ratón para la deleción condicional de shelterinas nos ha permitido también disponer de modelos para los llamados «síndromes teloméricos», que son unas enfermedades humanas caracterizadas por la presencia de defectos teloméricos graves debidos a mutaciones en la telomerasa o alguna de las shelterinas, entre los que se encuentran la anemia aplásica[23] y la fibrosis pulmonar idiopática. En particular, hemos generado un modelo murino de anemia aplásica mediante la deleción especifica de TRF1 en la médula ósea. Los ratones cuya médula ósea carece de TRF1 desarrollan anemia aplásica en el transcurso de unas pocas semanas, recapitulando fidedignamente la enfermedad humana, incluyendo el acortamiento telomérico extremo.[23] Este modelo será de gran utilidad en los estudios preclínicos de estrategias de activación de la telomerasa. Por último, los modelos de pérdida de función condicional y específica de tejido de TRF1 nos han llevado al diseño de fármacos contra TRF1 que son eficaces para frenar el crecimiento de los cánceres de pulmón. Se trata de la primera vez que se han desarrollado pequeñas moléculas que tienen como objetivo las proteínas teloméricas, ya que hasta ahora solo se habían desarrollado potenciales fármacos contra la telomerasa.

Consecuencias de los telómeros cortos

24) Uno de los objetivos principales de mi grupo continuó siendo entender cómo los telómeros cortos provocaban patologías asociadas al envejecimiento para así poder retrasar el envejecimiento y con ello la enfermedad. Fuimos pioneros en explorar si los telómeros cortos afectaban a la función de las llamadas células madre adultas, que son las que regeneran los tejidos para así mantener el buen estado de forma del organismo. Aunque cola-

boramos con distintos grupos en el estudio de distintos compartimentos de células madre en el contexto de la presencia de telómeros cortos, sin duda el trabajo más esclarecedor fue aquel en el que descubrimos que la presencia de telómeros cortos en los compartimentos de células madre de la piel disminuían la capacidad de las células madre de responder ante estímulos regenerativos.[24] Este defecto anticipaba el hecho de que los telómeros cortos conllevaban un mayor envejecimiento y una menor tasa de cáncer. Observamos además que p53 era una proteína esencial en la prevención de que las células con telómeros cortos se activaran para regenerar tejidos, algo que sin duda es un mecanismo para garantizar que los tejidos regenerados estén libres de daño y, por lo tanto, puedan ser menos propensos a desarrollar un cáncer. En este momento vimos claramente lo que ya habíamos intuido en 2001 con el trabajo de la reactivación de telomerasa y la prevención de las patologías asociadas a telómeros cortos en ratones:[7] si fuésemos capaces de alargar los telómeros de estos compartimentos de células madre, entonces deberíamos de ser capaces de alargar el tiempo de vida sin enfermedad y, por ello, también la longevidad.

Desarrollo de las técnicas para medir telómeros: cuando la tecnología es necesaria para avanzar en el conocimiento

25) Desde 1997, fecha en la que colaboramos con el grupo de Peter Lansdorp para utilizar su tecnología de FISH cuantitativo para poder observar y cuantificar cambios en la longitud de los telómeros del ratón sin telomerasa, mi grupo ha tenido como uno de sus objetivos poder adaptar esta tecnología, que es farragosa y compleja, ya que implica la generación de metafases, y por lo tanto el cultivo in vitro de las células, para poder usarla de una manera rápida, masiva y precisa, tanto en muestras de sangre circulante como en cortes de tejidos, y sin necesidad de tener que cultivar las células. Este tipo de muestras biológicas son las que de hecho suelen estar disponibles en los bancos de sangre o de tejidos. Primero desarrollamos el que denominamos *high throughput QFISH* en muestras de sangre,[25] que permite la determinación de la abundancia de telómeros cortos en muchas muestras simultáneas y de manera rápida. Esta tecnología se licenció en 2010 a una nueva compañía, salida del CNIO, y llamada Life Length. La creación de Life Length fue posible gracias al apoyo del Programa de Transferencia de Tecnología de la Fundación Botín, que creyó en mis proyectos y en su posible interés comercial. Desde 2010, la Fundación Botín me acompaña en la tarea de acelerar el proceso desde los descubrimientos científicos básicos a productos con interés comercial y posible uso en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades. En 2014, Life Length opera en más de treinta países de todo el mundo comercializando esta tecnología como una técnica de diagnóstico de presencia de telómeros de longitud más corta de lo normal, algo que puede resultar de utilidad en la medicina preventiva y en el diagnóstico precoz de enfermedades como el cáncer o la enfermedad cardiovascular. En mi grupo continuamos estudiando la importancia de la longitud de los telómeros como un biomarcador con valor pronóstico para distintas enfermedades. Por ejemplo, colaboramos con el Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC) en el contexto del estudio PESA.

Posteriormente, adaptamos el mismo concepto, el de detectar telómeros individuales en cada célula, para poder detectarlos en cada célula de un tejido, generando mapas de longitud telo-

mérica. A esta tecnología la denominamos *telomapping*[26] y está sujeta a una patente concedida en Estados Unidos. Gracias al *telomapping* hemos podido descubrir que los compartimentos de las células madre tienen telómeros más largos que los compartimentos de células diferenciadas, lo cual nos ha permitido identificar, fundamentalmente en colaboración con otros grupos de investigación, nuevas células madre adultas que hasta ahora eran desconocidas.

La técnica del *telomapping* permite también el análisis en biopsias de tejido normal o patológico (tumores, por ejemplo). Esto puede ser de gran utilidad para determinar el efecto que distintos tratamientos puedan tener en la longitud telomérica.

La telomerasa y la pluripotencia

26) Uno de los hitos recientes de la biomedicina fue la reprogramación por Shinya Yamanaka de células diferenciadas a células pluripotentes, que son las células capaces de formar cualquier tipo celular o incluso un organismo entero, y que normalmente solo existen brevemente en los estadios tempranos del desarrollo embrionario, un momento en el que también conviven con niveles de telomerasa muy altos. Esto nos llevó a estudiar qué ocurría con los telómeros y la telomerasa durante el proceso de reprogramación. ¿Se alargarían de manera mágica en un tiempo récord? Si así fuese, ¿nos podría desvelar nuevas maneras de alargar los telómeros y conseguir así células y tejidos más jóvenes y longevos?, ¿nos podría desvelar qué genes o actividades son necesarias para este proceso de rejuvenecimiento de los telómeros? Observamos que los telómeros se alargaban espectacularmente cuando una célula adulta diferenciada se convertía en una célula pluripotente[27] y que este alargamiento era necesario para la buena calidad de las células pluripotentes resultantes y era ejecutado por la telomerasa,[28] y requería proteínas que eran necesarias para que la telomerasa accediera a los telómeros, como la proteína TTP1.[19] Curiosamente, los telómeros más largos de las células pluripotentes continuaban creciendo conforme estas se dividían hasta convertirse en lo que denominamos telómeros «hiperlargos». Observamos que lo anterior se debía a que la cromatina de los telómeros de las células pluripotentes permitía que la telomerasa fabricara más y más telómeros hasta alcanzar longitudes muy largas. Este fenómeno de telómeros «hiperlargos» ocurría también cuando se cultivan in vitro las células pluripotentes naturales derivadas del blastocito y lo estamos utilizando para intentar generar ratones con telómeros «hiperlargos» que quizá sean capaces de vivir más que los que tienen los telómeros con la longitud normal de la especie.

Hemos observado recientemente que una de las proteínas protectoras de los telómeros, o shelterinas, la llamada TRF1, es inducida por el factor de reprogramación Oct4 a niveles de expresión muy altos en las células pluripotentes, y que es de hecho un excelente marcador para seleccionar aquellas células IPS de mejor calidad.[29]

La activación de telomerasa y la longevidad

27) Una de las aportaciones que considero sin duda más importantes de entre las realizadas por mi grupo, tras la generación y análisis de los ratones carentes de telomerasa, es la demostración de que la telomerasa es suficiente para alargar la juventud, retrasar la aparición de enfermedades y aumentar la longevidad. Por un lado, nuestro grupo generó unos

ratones transgénicos que gozaban de una resistencia al cáncer aumentada (portan copias extra de los genes supresores de tumores p53, p16 y p19ARF) y que sobreexpresaban de forma constitutiva TERT, el componente proteico de la telomerasa. Estos ratones triplemente transgénicos presentaban un mejor estado de forma del organismo, un retraso sistémico en el envejecimiento y una longevidad prolongada.[30] Este trabajo demostró por vez primera los efectos antienvejecimiento de la telomerasa. Estudios posteriores de mi grupo han resaltado el potencial de las terapias antienvejecimiento basadas en la telomerasa y han arrojado luz sobre la implicación del acortamiento telomérico en el envejecimiento biológico.

Así, observamos que la administración dietética en ratones de un compuesto natural activador de la telomerasa producía un alargamiento de los telómeros cortos e incrementaba el periodo de vida de los ratones adultos y viejos sin incrementar la incidencia de cáncer. También mostramos que la terapia génica con telomerasa en ratones adultos y en ratones viejos conseguía unos efectos marcadamente beneficiosos en su salud y estado de forma, entre los que se incluyen la sensibilidad a la glucosa, la osteoporosis, la coordinación neuromuscular y otros biomarcadores de envejecimiento, sin observarse un aumento en la incidencia de cáncer.[31] Estos ratones sometidos a terapia génica con telomerasa experimentaron un aumento en su longevidad. Los efectos beneficiosos anteriores no se observan cuando la terapia se realiza con TERT catalíticamente inactiva, lo que demuestra que, para que se produzcan, se requiere la telomerasa. Los resultados obtenidos con nuestra terapia génica basada en la telomerasa constituyen una prueba de principio de que el tratamiento de ratones adultos con la telomerasa es suficiente para retrasar las patologías asociadas a la edad y extender la longevidad de los ratones sin incurrir en un aumento de la incidencia de cáncer.

En humanos y ratones con un sistema de mantenimiento telomérico defectuoso, los telómeros aberrantemente cortos tienen una longevidad disminuida. La variación interindividual en la longitud telomérica en humanos y en ratones es elevada, aunque se desconocía si esto se asocia al potencial de vida. Para averiguarlo, nuestro grupo realizó un estudio de la longitud telomérica a lo largo de la vida de ratones silvestres y transgénicos. Observamos que los telómeros murinos se acortan cien veces más rápido que los humanos, y que es la tasa de aumento en el porcentaje de telómeros cortos, más que la tasa mensual de acortamiento telomérico, la que es un factor de predicción significativo del periodo de vida en las dos cohortes de ratones, y que aquellos individuos que exhibían una mayor tasa de aumento en el número de telómeros cortos eran también los que vivían menos. Estos hallazgos demostraron que los telómeros cortos tienen un impacto directo en la longevidad de los mamíferos.

En un intento por mejorar nuestra comprensión de los mecanismos por los cuales se produce el envejecimiento, hemos determinado el perfil metabolómico en suero de un número de ratones con diferentes fondos genéticos y edades. Hemos definido así una firma metabolómica robusta y un sistema de puntuación metabolómica que predice de manera ajustada y de confianza la edad de los ratones silvestres. En el caso de los ratones deficientes en telomerasa, que tienen una vida media acortada, la puntuación metabolómica predice una edad mayor que la esperada. En los ratones que sobreexpresan telomerasa, la puntuación metabolómica corresponde a edades menores de lo esperado. La reactivación tardía en edad adulta mediante la aplicación de terapia génica basada en telomerasa

convertía significativamente el perfil metabolómico de los ratones viejos en perfiles característicos de ratones más jóvenes, lo que vuelve a confirmar el papel antienvejecimiento de la telomerasa. La firma metabolómica asociada al envejecimiento natural de los ratones predice el envejecimiento producido por el acortamiento telomérico, lo que sugiere que el envejecimiento natural en los ratones está producido en parte por la presencia de telómeros cortos.

He participado recientemente en la propuesta de definición de cuáles son los sellos de marca que representan los denominadores comunes de envejecimiento en diferentes organismos.[32] En dicho estudio se ha considerado que para que una determinada característica/actividad constituya un sello de marca del envejecimiento ha de cumplir con los tres criterios siguientes: se manifiesta durante el proceso normal de envejecimiento, su empeoramiento experimental debería acelerar el envejecimiento y su mejoría experimental retrasar el proceso de envejecimiento y, por lo tanto, aumentar el periodo de vida sano (libre de enfermedad). El acortamiento progresivo de los telómeros con el aumento de la edad es una de las nueve marcas de sello del envejecimiento. La atrición telomérica con la edad cumple con los tres requisitos requeridos para adquirir tal consideración: es un fenómeno que ocurre durante el envejecimiento fisiológico en los mamíferos, la disfuncionalidad telomérica patológica acelera el envejecimiento en ratones y humanos y la estimulación experimental de la telomerasa retrasa el envejecimiento. Mi grupo ha contribuido decisivamente a la demostración de todos y cada uno de estos tres requisitos, haciendo que el acortamiento telomérico sea una de las rutas moleculares del envejecimiento mejor caracterizadas y con mayor evidencia genética de que modulan el *health span* o tiempo de vida sin enfermedad.

La activación de telomerasa y las enfermedades

28) El acortamiento telomérico asociado al envejecimiento es uno de los principales factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular (ECV), tanto en humanos como en ratones. Los ratones que portan telómeros excesivamente cortos debido a la deficiencia en telomerasa desarrollan cardiomiopatía caracterizada por un aumento en la muerte de cardiomiocitos e hipertrofia celular, concomitante con una dilatación ventricular, adelgazamiento de la pared cardiaca y disfunción cardiaca. El infarto de miocardio induce unas alteraciones profundas en la arquitectura ventricular con formación de cicatriz, dilatación ventricular e hipertrofia del miocardio no infartado. La ECV asociada al envejecimiento y el infarto de miocardio (IM) conllevan ciertas alteraciones cardiacas compartidas. La capacidad regeneradora en el corazón se pierde con la edad. El corazón de los ratones neonatos puede experimentar una regeneración completa tras la resección quirúrgica parcial o la inducción de IM. Este potencial de regeneración completa se pierde, sin embargo, tras la primera semana de vida. De manera análoga, la pérdida de la capacidad para una regeneración completa, la expresión de los genes esenciales de la telomerasa TERC y TERT, también se pierde durante la primera semana de vida posnatal.

Los hechos anteriores me llevaron a especular si la reexpresión de la telomerasa en el corazón adulto podría ayudar en su regeneración tras el IM. El empleo de la activación de la telomerasa, mediante su sobreexpresión o el empleo de terapia génica basada en la telomerasa como

estrategia para alargar los telómeros y retrasar el envejecimiento y las enfermedades asociadas a este, ya había sido concebida y empleada con éxito por nuestro grupo en el pasado. Puesto que se ha observado que la expresión transgénica de TERT conduce a un aumento en la hipertrofia del corazón coincidente con un incremento en la proliferación de cardiomiocitos in vivo, decidimos utilizar nuestra recién desarrollada terapia génica basada en telomerasa para investigar los posibles efectos terapéuticos de la expresión de la telomerasa tras el IM.[33] Empleamos para ello un modelo de ratón de IM en el que se induce este evento mediante la ligación de la arteria coronaria y vectores virales para la expresión especifica de TERT en el corazón. Hemos encontrado que la activación de la telomerasa en el corazón de los ratones tras el IM consigue una mejora de los parámetros de funcionalidad y morfologías cardiacas, alarga los telómeros, induce la activación de varias rutas asociadas a la protección cardiaca y la regeneración y reduce significativamente la muerte por fallo cardiaco tras el IM. Nuestros hallazgos sirven como prueba de concepto para el desarrollo de estrategias innovadoras basadas en la activación de la telomerasa para tratar el fallo cardiaco crónico y agudo.

Nuestro grupo también tiene interés en el empleo de estrategias de activación de la telomerasa para el tratamiento de otras enfermedades, aparte de la ECV. Así, estamos explorando el uso terapéutico de la activación de la telomerasa en el tratamiento de ciertos síndromes teloméricos como la anemia aplásica y la fibrosis pulmonar idiopática (FPI) familiar. Como he mencionado anteriormente, los denominados síndromes teloméricos son enfermedades genéticas humanas asociadas a mutaciones en la telomerasa y las proteínas shelterina. Estas mutaciones c onducen a la aparición de telómeros excesivamente cortos y a una pérdida prematura de la capacidad regenerativa de los tejidos.

La anemia aplásica es una enfermedad que puede resultar fatal y que se caracteriza por una medula ósea hipocelular y una reducción en el número de las células sanguíneas. Disponemos de un modelo de ratón generado por nosotros que recapitula el fenotipo de los pacientes de anemia aplásica[23] en el que ensayaremos nuestra terapia génica basada en la telomerasa. Anticipamos que la reactivación de la telomerasa alargará los telómeros cortos en las células madre y las células precursoras del sistema hematopoyético, y suprimirá o retrasará el fallo de la medula ósea.

La FPI es una enfermedad mortal que resulta del daño crónico en el pulmón cuya etiología todavía no está muy bien conocida. El acortamiento telomérico debido a mutaciones en la telomerasa está vinculado a los caso de FPI familiar. Los ratones deficientes en telomerasa no desarrollan FPI debido a su muerte prematura a causa de otras patologías. La generación de modelos de ratón que recapitulen la FPI permanece pendiente. Puesto que la depleción en la shelterina TRF1 lleva a una rápida disfunción telomérica y muerte celular independientemente de la longitud telomérica, mi hipótesis es que la depleción de TRF1 en los epitelios pulmonares puede llevar a la FPI en los ratones. Estamos generando dicho modelo animal, que de cumplir con las expectativas, utilizaremos como modelo preclínico para el desarrollo de estrategias terapéuticas basadas en la activación de la telomerasa.

Bibliografía

1. M. A. Blasco, M. Rizen, C. W. Greider y D. Hanahan, «Differential regulation of telomerase activity and its RNA component during multistage tumorigenesis», en *Nat Genet*, vol. 12, 1996, pp. 200-204.

2. M. A. Blasco, W. Funk, B. Villaponteau y C. W. Greider, «Functional characterization and developmental regulation of mouse telomerase RNA component», en *Science*, vol. 269, 1995, pp. 1267-1270.

3. H. W. Lee, M. A. Blasco, G. J. Gottlieb, C. W. Greider y R. A. DePinho, «Essential role of mouse telomerase in highly proliferative organs», en *Nature*, vol. 392, 1998, pp. 569-574.

4. E. Herrera, E. Samper y M. A. Blasco, «Telomere shortening in mTR-/- embryos is associated with a failure to close the neural tube», en *EMBO J*, vol. 18, 1999, pp. 1172-1181.

5. M. A. Blasco, H. W. Lee, P. Hande, E. Samper, P. Lansdorp, R. DePinho y C. W. Greider, «Telomere shortening and tumor formation by mouse cells lacking telomerase RNA», en *Cell*, vol. 91, 1997, pp. 25-34.

6. E. González-Suárez, E. Samper, J. M. Flores y M. A. Blasco, «Telomerase-deficient mice with short telomeres are resistant to skin tumorigenesis», en *Nat Genet*, vol. 26, 2000, pp. 114-117.

7. E. Samper, J. M. Flores y M. A. Blasco, «Restoration of telomerase activity rescues chromosomal instability and premature aging in Terc-/-mice with short telomeres», en *EMBO Rep*, vol. 2, 2001, pp. 800-807.

8. R. Benetti, S. Gonzalo, I. Jaco, G. Schotta, P. Klatt, T. Jenuwein y M. A. Blasco, «Suv4-20h deficiency results in telomere elongation and de-repression of telomere recombination», en *J Cell Biol*, vol. 178, 2007, pp. 925-936.

9. R. Benetti, M. García-Cao y M. A. Blasco, «Telomere length regulates the epigenetic status of mammalian telomeres and subtelomeres», en *Nat Genet*, vol. 39, 2007, pp. 243-250.

10. S. Gonzalo, I. Jaco, M. F. Fraga, T. Chen, E. Li, M. Esteller y M. A. Blasco, «DNA methytransferases control telomere length and telomere recombination in mammalian cells», en *Nat Cell Biol*, vol. 8, 2006, pp. 416-424.

11. M. García-Cao, S. Gonzalo, D. Dean y M. A. Blasco, «Role of the Rb family members in controlling telomere length», en *Nat Genet*, vol. 32, 2002, pp. 415-419.

12. M. García-Cao, R. O'Sullivan, A. H. Peters, T. Jenuwein y M. A. Blasco, «Epigenetic regulation of telomere length in mammalian cells by the Suv39h1 and Suv39h2 histone methyltransferases», en *Nat Genet*, vol. 36, 2004, pp. 94-99.

13. S. Schoeftner y M. A. Blasco, «Developmentally regulated transcription of mamalian telomeres by DNA dependent RNA polymerase II», en *Nat Cell Biol*, vol. 10, 2008, pp. 228-236.

14. I. López de Silanes, M. Stagno d'Alcontres y M. A. Blasco, «TERRA-associated RNA binding proteins», en *Nat Commun*, vol. 1, 2010, pp. 1-9.

15. I. López de Silanes, O. Graña, M. L. de Bonis, O. Domínguez, D. G. Pisano y M. A. Blasco, «Identification of TERRA locus unveils a telomere protection role through association to nearly all chromosomes», en *Nat Commun*, vol. 5, n.º 4723, 2014. DOI: 10.1038/ncomms5723

16. P. Muñoz, R. Blanco, J. M. Flores y M. A. Blasco, «XPF nuclease-dependent telomere loss and increased DNA damage in mice overexpressing TRF2 result in premature aging and cancer», en *Nat Genet*, vol. 10, 2005, pp. 1063-1071.

17. R. Blanco, P. Muñoz, P. Klatt, J. M. Flores y M. A. Blasco, «Telomerase abrogation dramatically accelerates TRF2-induced epithelial carcinogenesis», en *Genes Dev*, vol. 21, 2007, pp. 206-220.

18. P. Martínez, M. Thanasoula, P. Muñoz, C. Liao, A. Tejera, C. McNees, J. M. Flores, O. Fernández-Capetillo, M. Tarsounas y M. A. Blasco, «Increased telomere fragility and fusions resulting from TRF1 deficiency lead to degenerative pathologies and increased cancer in mice», en *Genes Dev*, vol. 23, 2009, pp. 2060-2075.

19. A. M. Tejera, M. Stagno d'Alcontres, M. Thanasoula, R. M. Marión, P. Martínez, C. Liao, J. M. Flores, M. Tarsounas y M. A. Blasco, «TPP1 is required for TERT recruitment, telomere elongation during nuclear reprogramming, and normal skin development in mice», en *Dev Cell*, vol. 18, 2010, pp. 775-789.

20. P. Martínez, M. Thanasoula, A. R. Carlos, G. Gómez-López, A. M. Tejera, S. Schoeftner, O. Domínguez, D. Pisano, T. Tarsounas y M. A. Blasco, «Mammalian RAP1 controls telomere function and gene expression through binding to telomeric and extra-telomeric sites», en *Nat Cell Biol*, vol. 12, 2010, pp. 768-780.

21. P. Martínez, G. Gómez-López, F. García, E. Mercken, S. Mitchell, J. M. Flores, R. de Cabo y M. A. Blasco, «RAP1 protects from obesity through its extratelomeric role regulating gene expression», en *Cell Rep*, vol. 3, 2013, pp. 2059-2074.

22. A. J. Ramsay, V. Quesada, M. Foronda, L. Conde, A. Martínez-Trillos, N. Villamor, D. Rodríguez, A. Kwarciak, C. Garabaya, M. Gallardo, M. López-Guerra, A. López-Guillermo, S. Xosé, X. S. Puente, M. A. Blasco, E. Campo y C. López-Otín, «POT1 mutations cause telomere dysfunction in chronic lymphocytic leukemia», en *Nat Genet*, vol. 45, 2013, pp. 526-530.

23. F. Beier, M. Foronda, P. Martínez y M. A. Blasco, «Conditional TRF1 knockout in the hematopoietic compartment leads to bone marrow failure and recapitulates clinical features of Dyskeratosis congenita», en *Blood*, vol. 120, 2012, pp. 2990-3000.

24. I. Flores, M. L. Cayuela y M. A. Blasco, «Effects of Telomerase and Telomere Length on Epidermal Stem Cell Behavior», en *Science*, vol. 309, 2005, pp. 1253-1256.

25. A. Canela, E. Vera, P. Klatt y M. A. Blasco, «High-thoughput telomere length quantification by FISH and its application to human population studies», en *PNAS*, vol. 104, 2007, pp. 5300-5305.

26. I. Flores, A. Canela, E. Vera, A. Tejera, G. Cotsarelis y M. A. Blasco, «The longest telomeres: a general signature of adult stem cell compartments», en *Genes Dev*, vol. 22, 2008, pp. 654-667.

27. R. M. Marión, K. Strati, H. Li, S. Schoeftner, A. Tejera, M. Serrano y M. A. Blasco, «Telomeres in induced pluripotent stem (iPS) cells acquire ES cells characteristics», en *Cell Stem Cell*, vol. 4, 2009, pp. 141-154.

28. R. M. Marión, K. Strati, H. Li, M. Murga, R. Blanco, S. Ortega, O. Fernández-Capetillo, M. Serrano y M. A. Blasco, «A p53-mediated DNA damage response limits reprogramming to ensure iPS cell genomic integrity», en *Nature*, vol. 460, 2009, pp. 1149-1153.

29. R. P. Schneider, I. Garrobo, M. Foronda, J. A. Palacios, R. M. Marión, I. Flores, S. Ortega y M. A. Blasco, «TRF1 is a stem cell marker and is essential for the generation of induced pluripotent stem cells», en *Nat Commun*, vol. 4, n.º 1.946, 2013. DOI: 10.1038/ncomms2946

30. A. Tomás-Loba, I. Flores, P. Fernández-Marcos, M. L. Cayuela, A. Maraver, A. Tejera, C. Borrás, A. Matheu, P. Klatt, J. M. Flores, J. Viña, M. Serrano y M. A. Blasco, «Telomerase reverse transcriptase delays aging in cancer resistant mice», en *Cell*, vol. 135, 2008, pp. 609-622.

31. B. Bernardes de Jesús, E. Vera, K. Schneeberger, A. M. Tejera, E. Ayuso, F. Bosch y M. A. Blasco, «Telomerase gene therapy in adult and old mice delays aging and increases longevity without increasing cancer», en *EMBO Mol Med*, vol. 4, 2012, pp. 691-704.

32. C. López-Otín, M. A. Blasco, L. Partridge, M. Serrano y G. Kroemer, «The hallmarks of aging», en *Cell*, vol. 153, 2013, pp. 1194-1217.

33. C. Bär, B. Bernardes de Jesús, S. Serrano, A. M. Tejera, E. Ayuso, V. Jiménez, I. Formentini, M. Bobadilla, J. Mizrahi, A. de Martino, G. Gómez-López, D. G. Pisano, F. Mulero, K. C. Wollert, F. Bosch y M. A. Blasco, «Telomerase expression confers cardioprotection in the adult mouse heart after acute myocardial infarction», en *Nat* Commun, 2014, en prensa.

RICARD SOLÉ

APUNTES AUTOBIOGRÁFICOS ENTRE EL ORDEN Y EL CAOS

23

¿Dónde empieza una carrera científica? ¿En qué momento se despierta esa curiosidad incontenible de la que ya nunca te vas a librar? ¿Por qué los seres humanos podemos llegar a estar tan obsesionados con encontrar una solución a un problema? Desconozco las respuestas exactas a estas preguntas, aunque sí puedo decir que sospecho que la semilla del científico en el que terminé por convertirme surgió en esa época remota de la infancia de la que, desafortunadamente, apenas podemos recordar nada. Según dicen los científicos, debemos olvidar los comienzos de la infancia para que nuestra mente pueda desarrollarse plenamente. Así que no hay nada que hacer. Si miramos atrás hacia las huellas que ha dejado nuestra existencia, estas se borran casi de repente cuando las marcas de los zapatos son aún pequeñas y el rastro inseguro. Entre mis recuerdos de lo que Manuel Vicent llamaba «los días claros de la niñez» me veo a mí mismo sentado en el suelo junto a mi madre, observando las hormigas en un diminuto parque junto a la Sagrada Familia. De vez en cuando, al levantar la vista, podía ver a otras criaturas dentro de la gran estructura que se iba levantando hacia el cielo. El sueño de un arquitecto-ingeniero que se inspiraba en la naturaleza se hacía realidad gracias a la inspiración del genio Gaudí.

Hasta donde puedo alcanzar, siempre he sentido una enorme curiosidad acerca de todo lo que me rodeaba. Esa curiosidad y la sensación de aventura asociada a la ciencia tienen mucho que ver con mis padres, su experiencia vital y su convicción de que el conocimiento es lo más valioso que poseemos, siempre y cuando lo empleemos de forma adecuada. Ellos vivieron una infancia y adolescencia trágicas, marcadas por la Guerra Civil. Mi padre llegó a Barcelona desde Aragón siendo un niño, y tuvo la suerte de ir al Instituto-Escuela de la Generalitat, que se encontraba en el Parc de la Ciutadella. La escuela estaba dirigida por el físico Josep Estalella Graells, que no solo era un pionero de la ciencia de su tiempo, sino también todo un revolucionario en su visión de la educación. La escuela, heredera de la Institución Libre de Enseñanza, era muy avanzada, con un modelo de educación laico, mixto y un fuerte componente experimental basado en la visión científica del mundo. Lejos de la enseñanza puramente memorística, los niños y niñas aprendían a pensar mediante una exposición rigurosa pero divertida del método científico. Estalella consideraba importante emplear métodos de enseñanza que acercaran la ciencia al futuro ciudadano, y la visión y pedagogía de la escuela se resumían en el lema escrito en 1933 en una pared del centro: «Nos hemos propuesto en primer lugar hacer hombres buenos; si son fuertes, mejor; y si además son sabios, aún mejor». Mi padre siempre recordó aquellos años de aprendizaje en el que los experimentos y las excursiones naturalistas al campo formaban parte del aprendizaje diario. Muchos de aquellos experimentos se describen en un pequeño libro que mi padre conservó, y que ahora poseo: *Curso de Física y Química*, del doctor Estalella. La mayoría de aquellos experimentos no se hacen hoy en nuestras escuelas o institutos. A través de ellos, se planteaban preguntas que servían de fuente de exploración mental.

Muchos años después, mi padre aún recordaba con enorme nostalgia aquella época feliz. Mi madre fue también una niña republicana, muy curiosa e inquieta, amante sin límites de la lectura —algo que yo he heredado— y con sus propios sueños, como el de ser arqueóloga. Nunca pudo cumplir aquel deseo, ya que las penurias económicas que habían de llegar impidieron que pudiera seguir estudiando. Aún hoy, al recordar el día en que sus padres le dijeron que ya no volvería a estudiar, no puede evitar contener las lágrimas.

El sueño de una sociedad con «hombres sabios» de Estalella se terminó con el inicio de la guerra. Y mi padre tuvo la mala suerte de ser lo bastante mayor como para ser enviado al frente y demasiado niño como para entender lo que eso representaba. Con diecisiete años formó parte de la tristemente famosa Quinta del Biberón, y participó en la batalla del Ebro, de la que él pudo volver pero no sus amigos. Se terminó la guerra y vino el silencio forzoso que no apagó cierto aire de rebelión que también tuvo su efecto en mi personalidad. Para todo científico, cuestionar la autoridad superior es un principio fundamental: ni la autoridad ni la tradición tienen cabida en una visión racional del mundo. Y aunque no íbamos muy bien de dinero —nunca tuvimos casa ni coche propios—, los libros nunca faltaron. Mis padres compraban en abundancia libros nuevos y, sobre todo, de segunda mano, y la biblioteca formó parte de los años de descubrimiento de la literatura, con Jules Verne y Edgar Allan Poe como grandes protagonistas. Las librerías «de viejo» de la calle Aribau, hoy ya casi todas desaparecidas, eran una especie de segunda patria en la que rebuscar durante horas entre kilómetros de estanterías. Como los exploradores de los cuentos, en ocasiones un tesoro inesperado aparecía en algún rincón insospechado. Algunos de los libreros terminaron por conocerme bien, ya que mis visitas se prolongaron durante muchos años, hasta que las librerías terminaron por echar el cierre. La biblioteca doméstica era también un rincón de libertad en el que sumergirse de la mano de *Frankenstein* o *Los tres mosqueteros*.

Mi padre era marino mercante y pasaba más de la mitad del tiempo viajando. En parte por este motivo, y pese a no ser creyente, mis hermanos y yo acabamos asistiendo al colegio de los Hermanos Maristas, que estaba a un minuto de nuestra casa. Imagino que esperaba de aquella educación una disciplina que él no podía darnos. Mi recuerdo de aquellos ocho años de EGB en la España aún franquista es bastante pobre, por no decir nulo. Los profesores me resultaban increíblemente aburridos, y la violencia física, sobre todo por parte de algunos sacerdotes, fue una constante de aquellos años. Mi desinterés solía ir acompañado de cierta tendencia al desafío y a cuestionar la autoridad. En aquella escuela tan alejada de la que habían conocido mis padres, me resultaba muy difícil no terminar castigado de una forma u otra. Durante aquellos años recibí el regalo de un microscopio y dos juegos de química, y mi abuela, que no se imaginaba que aquello pudiera terminar en una explosión y nunca supo de un conato de incendio, me dejó una habitación de su casa para que instalara mi primer laboratorio. Al volver de sus viajes, mi padre solía traer animales exóticos que terminaban siendo vendidos, incluyendo entre otros una iguana y un cocodrilo. La iguana se escapaba a menudo de su caja y en una ocasión me la encontré debajo de una cama, huyendo de aquel mundo extraño que tenía muy poco que ver con el mundo perdido al que no regresaría jamás. El cocodrilo pasó su semana de tránsito en la bañera de casa, lo que sin duda nos sirvió para mejorar nuestra relación con los reptiles pero para empeorar notablemente el nivel de

higiene familiar. Con el tiempo, mi interés de naturalista se desplazó, por un lado, a lo más pequeño y, por otro, al conocimiento del pasado de nuestro planeta. Recuerdo con especial cariño un pequeño libro de fósiles en el que se presentaba la teoría de la evolución de Darwin y la conexión entre distintas formas de vida que se remontaba a un pasado que había que medir no en términos de miles de años, sino de millones. El impacto que me produjo aquella constatación de un proceso invisible —pero muy poderoso— que parecía explicar el origen de la complejidad del mundo vivo fue enorme. Darwin además se había enfrentado en su época con la religión tradicional, que emprendió una verdadera cruzada contra su teoría. Aunque la Iglesia católica mantenía un pulso con esta visión, rechazando la idea de que el ser humano formara parte de aquella cadena, comprendí que Darwin era el ganador, por lo que no es de extrañar que se convirtiera, junto con Galileo, en uno de mis héroes intelectuales. La elegancia de la teoría evolutiva era abrumadora. La pobreza argumental de la religión como forma de explicar el mundo me resultó obvia desde entonces y aquello llevó a una colisión inevitable. Precisamente en aquella época, mis hermanos tenían un profesor particular de lengua y literatura que les había recomendado lecturas «problemáticas». Yo entraba en la adolescencia escuchando de soslayo aquellas conversaciones en las que salía un tal Nietzsche que había escrito –¡en un libro!– que Dios había muerto. Mucho antes de lo que debería, leí el libro que más me ha impresionado jamás, y al que he ido regresando a lo largo de los años: *La peste*, de Albert Camus. Todas esas lecturas, de las que hablaba con mis compañeros en clase, llevaron a la dirección a escribir a mis padres para advertirles de que, de seguir en ese camino, sería expulsado. Terminé el octavo curso y abandoné para siempre aquel colegio. Pero si debo ser justo, siempre les agradeceré a aquellos sacerdotes, de sotana negra y pensamiento no menos oscuro, su ayuda para alejarme de cualquier autoridad dogmática.

En el Instituto Jaume Balmes me encontré con un escenario intelectual y humano radicalmente distinto. Además de una muy bienvenida ausencia de la religión obligatoria, me encontré a lo largo de aquellos cuatro años con algunos profesores que realmente cambiaron mi trayectoria vital. Eran tiempos muy agitados políticamente, y mi interés posterior por los sistemas inestables puede que se incubara durante aquellos días de manifestaciones, asambleas, carreras e incertidumbre social. Dado que siempre he tenido una mayor actividad mental a medida que el día transcurre, decidí asistir a las clases del nocturno. Mis compañeros eran estudiantes que trabajaban y estudiaban, y he conservado un recuerdo muy vivo de aquellos compañeros de fatigas con los que pude compartir inquietudes políticas, filosóficas y científicas. Por aquel entonces ya había descubierto la que se convertiría en mi pasión en un libro de Alianza Editorial titulado *Hacia una biología teórica*, editado por un tal Conrad H. Waddington. En aquel grueso volumen descubrí a varios autores con los que acabaría no solo colaborando, sino también trabando amistad. Los distintos capítulos consideraban el problema de definir una nueva disciplina, la biología teórica, que debía establecer puentes entre la biología descriptiva y las teorías matemáticas, que podrían hacerla más cercana a otras disciplinas más cuantitativas, como la física. Temas como el cerebro, las redes genéticas, el problema de la jerarquía en biología o el de la estabilidad de los sistemas. El libro de Waddington sugería la posibilidad de redefinir la biología empleando una visión de sistemas que era totalmente contraria a la percepción reduccionista dominante: en último término, comprender los detalles de los componentes de un sistema era todo lo necesario —se decía y enseñaba en la universidad— para entender el sistema en

su totalidad. En aquel libro se esbozaba ya la idea de que existen propiedades globales que no son reducibles a los componentes del sistema, por muy bien que los comprendamos. De la misma colección, disfruté enormemente de dos libros de biología magníficos: *El cerebro* y *Biología molecular. Enfoque estructural*, ambos de C. U. M. Smith. El segundo en especial me orientó hacia las bases moleculares de la biología, reemplazando en buena medida mis intereses naturalistas. La complejidad celular, cuya comprensión no ha cesado de crecer a lo largo de estos años, no ha dejado nunca de sorprenderme. Y con aquellos libros también vino mi primer ordenador, un ZX81 con tan solo 1 kB de memoria. No podía imaginar entonces que células y ordenadores pudieran tener algo en común más allá de alguna metáfora interesante.

Sin duda, mi mejor recuerdo de esos años en el Balmes es el de mi profesor de Física, el profesor Carreras, que entonces también daba clase en la Facultad de Física de la Universidad de Barcelona. Nunca me había tomado la física como algo relevante o interesante, aunque junto a un compañero del instituto construimos un telescopio de considerables dimensiones con el que pasé muchas noches mirando las estrellas, cuando el cielo de Barcelona todavía permitía ver algo. Pero astronomía y física me parecían disciplinas totalmente desconectadas. Supongo que hasta entonces no había tenido un buen profesor de Física y tenía muy claro que estudiaría Biología en la universidad. Y, sin embargo, la primera clase de aquel curso lo cambió todo. Aún recuerdo el día en que se presentó aquel profesor con aspecto de un Einstein joven. El tema inicial era «Teoría del vector campo». Se trataba de una clase más matemática de lo que hubiera imaginado, y tan elegante en su desarrollo que me dejó muy intrigado. ¿Dónde estaba la Física? Pero a medida que íbamos avanzando, descubrí que las fórmulas que otros me habían obligado a memorizar surgían una tras otra de forma natural. Y las bases que habíamos establecido al principio servían para levantar un edificio teórico de enorme potencia. Problemas muy distintos –al menos en apariencia– eran resolubles desde las mismas ecuaciones. Detrás de unas pocas expresiones matemáticas se ocultaba un universo de posibles soluciones. Como le ha ocurrido a casi todos los que descubren la belleza de la ciencia formal, la búsqueda de la elegancia y la simplicidad en mi trabajo posterior quedaron sin duda marcadas por esta experiencia. Nunca podré estar lo suficientemente agradecido al profesor Carreras por sus magníficas clases y por abrirme la ventana para observar la naturaleza con la mente de un teórico.

Al terminar el curso comprendí que debía estudiar la carrera de Física, sin abandonar mi proyecto inicial de estudiar Biología. No era precisamente una decisión corriente. Lo más que había oído acerca de seguir dos licenciaturas simultáneas tenía que ver con Física y Química o Física y Matemáticas. Por si las cosas no eran difíciles, se complicaron aún más cuando tuve que abandonar mi casa debido a desavenencias con mi padre. No podía seguir allí, pero eso representaba también que debía buscar un nuevo lugar para vivir y alguna forma de ganarme la vida. Durante un tiempo hice todo tipo de trabajos, entre ellos dar clases particulares de Física y Matemáticas a estudiantes de primer año de diversas facultades. Al cabo de un tiempo me había ganado cierta reputación como profesor y pude mantenerme razonablemente bien. Esta independencia forzosa trajo con- sigo la compañía de un grupo de compañeros de viaje con los que iba a compartir varios años de vida en común en distintos pisos de estudiantes. La completa libertad de la que disponíamos nos hizo vagar sin complejos por las fronteras. Si bien llevábamos una vida un

tanto disipada, también reunimos una biblioteca impresionante, disponíamos de nuestra colección de ordenadores personales y varias paredes estaban siempre forradas de pizarras llenas de fórmulas y desarrollos matemáticos. De forma espontánea organizábamos discusiones acerca de problemas lógicos, inteligencia artificial, filosofía, genética, neurociencia o historia. La vida bohemia se entrelazaba así con un afán de conocimiento que parecía no tener límites. Vivíamos con tal intensidad que creo que siempre fui consciente de que un día aquello se terminaría. Y el espíritu crítico con el que analizábamos el mundo y la forma en que la ciencia se aproxima a este no admitía concesiones. Aquella fue una gran oportunidad para cementar mi formación, que entró de lleno en el terreno de las fronteras entre disciplinas. Aquellos compañeros de viaje se convirtieron en amigos para toda la vida.

Durante los años de estudios universitarios las dificultades para asistir a las clases fueron considerables. Era imposible ir a todas, tanto porque se solapaban constantemente como porque mis propias clases particulares consumían un buen número de horas útiles. Afortunadamente, las facultades de Biología y de Física de la Universidad de Barcelona se encuentran una al lado de la otra, separadas por una calle. Así que, después de una clase de Genética Molecular, me iba corriendo al otro edificio para seguir el curso de Física Cuántica, para regresar de nuevo al otro edificio y asistir a una clase de Evolución. Debo señalar que no fui un «buen» estudiante. Con excepciones, raramente seguí las materias que definían los cursos y me dediqué en cuerpo y alma a estudiar aquellas partes de las materias que me parecían interesantes, a menudo dejando de lado gran parte del temario. El resultado fueron calificaciones bajas en la mayoría de las asignaturas. Quiero destacar este punto para recordar que es muy distinto obtener buenas calificaciones y desarrollar una mente científica. En la Facultad de Biología tuve algunos profesores extraordinarios, como Jaume Baguñà, Mariano Marzo, Montse Aguadé o Roser González. En la Facultad de Física —cuyas materias estaban mayoritariamente ancladas en los conocimientos de cien años atrás— seguí el curso de Termodinámica de Procesos Irreversibles impartido por Jorge Wagensberg. Aquel curso me resultó increíblemente estimulante, y fue lo más cercano a una fusión entre física y biología. Por primera vez la palabra «complejidad» adquiría todas sus dimensiones. También fue la iniciación en el concepto de autoorganización: la naturaleza se escapaba de las ataduras del reduccionismo y el todo resultaba ser más que la suma de las partes. Pero esta imposibilidad de reducir el comportamiento global a las propiedades de los componentes no significaba que el sistema escapara a nuestra comprensión. Todo lo contrario, ya que la emergencia de orden a partir del caos molecular era perfectamente explicable desde la teoría. Las clases de Wagensberg introducían además un componente muy importante que hoy desempeña un papel central en la mayoría de áreas del conocimiento: el concepto de información. Más allá de la materia y la energía, la información es en muchos sentidos la verdadera clave de nuestra comprensión de lo vivo. La vida ha triunfado, en gran medida, por su capacidad de crecer y adaptarse mediante un empleo adecuado de la información. Aún hoy, resulta difícil describir de forma rigurosa de qué forma se integra y procesa la información en los sistemas vivos y cómo ha participado como elemento activo en la evolución de la complejidad. De lo que sí estamos seguros es de que cada gran innovación que se ha producido (la aparición de la vida, las células, por organismos multicelulares, el sexo, la cooperación o el lenguaje) ha sido acompañada de un nuevo tipo de información o una nueva manera

de almacenarla y transmitirla. Entre las novedades de las que nos hablaba Wagensberg, estaban los libros de la colección Metatemas, libros escritos por pensadores, matemáticos y científicos como Jacques Monod, Benoît Mandelbrot, Ilya Prigogine o Douglas Hofstadter. Este último acababa de publicar aquel curso la edición española del clásico *Gödel, Escher, Bach. Un eterno y grácil bucle*. Wagensberg nos explicó en clase que el libro trataba de las conexiones entre la música de Bach, los sorprendentes grabados del genial Maurits Escher y el teorema de Gödel y otros problemas relacionados con la recursividad. Para un lector obsesivo como yo, aquel parecía un libro excepcional del que debía tener una copia lo antes posible. Aquella tarde fui a ojear el libro a una librería del centro de Barcelona. El libro era realmente extraordinario, pero en aquel momento me encontraba económicamente arruinado, así que no podía comprarlo. Durante días volvía a la librería a leer aquel volumen enorme, hasta que pude hacerme con él. El libro de Hofstadter, al que he seguido volviendo una y otra vez a lo largo de mi carrera, proponía conexiones sorprendentes y, en sus páginas, el código genético, los programas de ordenador, las hormigas, la mente o los virus se entremezclaban sin cesar. Allí descubrí territorios inexplorados que me propuse recorrer si tenía alguna oportunidad.

Al ir terminando las licenciaturas, se abría para mí un dilema complicado. Deseaba continuar mi carrera de científico y el paso inevitable era la tesis doctoral, pero una vez más era incapaz de decidirme, así que al final inicié simultáneamente dos tesis doctorales, una en la Facultad de Biología y otra en la de Física. La primera, bajo la dirección de Jaume Baguñà, acerca de algunos problemas del desarrollo, y la otra con Jorge Wagensberg, sobre teoría de la información y ecología. Como parte de mi formación, conseguí —con el apoyo de Jaume— una beca de la Generalitat para estancias de investigación cortas. La idea inicial era trabajar unos tres meses con Robert Ransom, un pionero de los modelos de simulación del desarrollo biológico de la Open University, en el Reino Unido. La emoción de trabajar en una institución en el extranjero se unía al hecho de que aquel era, con veintiséis años, mi primer viaje fuera de España. Una de mis preocupaciones era cómo me entendería en inglés con los nativos. Mis idiomas extranjeros se limitaban al francés que había estudiado en el colegio y a un repertorio de palabras técnicas con las que me había defendido para leer artículos científicos. Decidí entonces que podía corregir algo el problema viendo películas en versión original. Si prestaba atención, podía aprender a decir algunas frases coherentes que me diferenciaran un poco de los apaches del cine. Fui a ver *House of Games*, una muy buena película que trataba de estafadores planeando sus crímenes y que me gustó mucho. Terminé viéndola cuatro veces, y el resultado final fue que las frases que recordaba eran del tipo «no te fíes de nadie» o «te mataré, maldito bastardo». Nada útil para encontrar una tienda de comida o hablar del tiempo con gente normal, como pude comprobar poco tiempo después.

Al llegar a la universidad, perdida en la campiña inglesa, me encontré con un panorama desolador: Ransom había decidido dejar la universidad para irse a la empresa privada. Aquella era una de las muchas consecuencias del gobierno ultraconservador de Margaret Thatcher, que dañó enormemente el tejido de la ciencia en el Reino Unido. Así que tuve que plantearme alguna alternativa. En la oficina de al lado estaba Brian Goodwin, catedrático del Departamento de Biología y que tenía una gran fama de científico radical. Su nombre me era bien conocido, ya que era uno de los autores de *Hacia una biología teórica,* que había releído ya en el instituto, y había sido alumno de Waddington. Según decían algunos, Goodwin negaba la

existencia de los genes y renegaba de la evolución darwiniana. Le comenté a Ransom mi intención de hablar con Goodwin sobre la posibilidad de trabajar con él y me respondió algo así como «pruébalo, pero ten en cuenta que está loco». Creo que Jaume Baguñà tenía una opinión parecida, pero aun así me animó a intentarlo. Con semejante recomendación, no esperaba demasiado de nuestra entrevista. Al entrar en la oficina de Brian, me encontré con un individuo encantador muy dispuesto a argumentar sus ideas. Estuvimos hablando durante una hora, entrando casi enseguida a discutir acerca de la naturaleza de la evolución biológica y cómo entender el origen de la complejidad. Si bien compartía algunas de las ideas que Brian desarrolló durante nuestro encuentro, mi formación de biólogo estaba muy sesgada por la importancia de los genes como claves para responder a las preguntas fundamentales. La idea de Goodwin en cambio era que las formas naturales y las reglas de desarrollo de los embriones seguirían leyes de tipo matemático. Debido a estas leyes universales, el conjunto de posibles formas sería muy limitado y el papel de la selección natural menos relevante como mecanismo generador de complejidad en el ámbito del organismo. Aunque Goodwin no negaba la función de los genes, consideraba que no podían explicar el origen de las formas vivas. La conversación prosiguió, pero Brian comprendió que mi actitud era enormemente escéptica y que estaba lejos de convencerme, así que al final me dijo: «Piensa en ello, ¿cuántas cosas explican o no los genes?, ¿cómo entra en el esquema de la evolución el organismo y su desarrollo?». Al salir me fui andando hacia la biblioteca de la universidad, pensando que aquel hombre paciente y amable debía de estar loco. Aun así, lo cierto es que aquellas preguntas seguían allí, sin respuesta. Y después de todos estos años no me han abandonado. Pese a las críticas feroces, Brian siempre mantuvo sus puntos de vista, muchos de los cuales han acabado siendo parte de nuestra visión de la biología.

Volví el mismo año al laboratorio de Goodwin para estudiar un problema de formación de estructuras en los embriones de *Drosophila*, la famosa mosca de la fruta con la que se ha construido buena parte de la genética moderna. Mi trabajo era teórico y consistía en extraer ciertas posibles señales de organización espacial a partir de datos experimentales tomados en distintos momentos del desarrollo del embrión. El trabajo era tedioso y, para alguien inquieto como yo, resultaba poco estimulante. Así que decidí preguntar a Brian si tenía algún otro tema para investigar. Era una apuesta arriesgada. Cuando tienes a alguien trabajando en un proyecto, la posibilidad de que los esfuerzos se desvíen en otra dirección no es el escenario óptimo, pero Brian fue generoso y, después de pensárselo, sacó de un archivador una carpeta y me dio una copia de un artículo que habían enviado hacía poco a una revista. El tema era fascinante: cómo representar una colonia de hormigas en términos de algo así como una red neuronal artificial simple, en la que las interacciones sociales entre hormigas artificiales (simuladas en el ordenador) se podían describir como interacciones entre neuronas. Cada hormiga sería un conjunto de neuronas, y estas interacciones harían al sistema capaz de tomar decisiones sobre cómo repartir tareas a lo largo del tiempo. Este problema era muy interesante, dado que se sabía que, en especies de hormigas en las que los individuos son morfológicamente idénticos (y, por lo tanto, no hay una asociación morfología-tarea), la colonia es capaz de redistribuir esfuerzos en distintas tareas en función de lo que se necesita en cada momento. De algún modo, las interacciones entre individuos hacen posible que el sistema pueda conocer su estado interno, sus necesidades y adaptarse a estas. Me fui caminando a la biblioteca en un estado de excitación enorme. Aquel era el tipo de problema que

estaba buscando, y me puse a leer libros sobre insectos sociales, cerebros y ordenadores hasta que cerraron la biblioteca. Entre otros, volví a disfrutar de *Gödel, Escher, Bach. Un eterno y grácil bucle* y la discusión de Hofstadter sobre las hormigas, el cerebro y la lógica. Algo más adelante desarrollé un modelo teórico de las colonias de hormigas que denominé «redes neurales fluidas», y que me permitió explicar un fenómeno extraño que se observaba en las colonias de algunas especies. En estas colonias, la actividad de los individuos no es constante a lo largo del tiempo. Cuando las observamos, vemos en algunos momentos una actividad muy baja o nula, sin movimiento. La activación de una hormiga, que ocurre al azar, hace que se mueva alrededor y, al entrar en contacto con otra, la active. El resultado es que se propaga una onda de activación que alcanza a toda la colonia. Las hormigas desempeñan diversas tareas mientras están activas, pero poco a poco la onda termina por debilitarse y el sistema vuelve a la inactividad. Si observamos cómo cambia a lo largo del tiempo la actividad del sistema, descubrimos una señal que nos podría recordar a la actividad del cerebro, que oscila también a lo largo del tiempo en forma de ondas semirregulares. Descubrí que era posible explicar el fenómeno y diversos experimentos relacionados mediante la hipótesis de que las hormigas actuaban como unas neuronas móviles que podían desplazarse entrando en contacto con otras a las que podían hacer «disparar» su actividad de manera similar a lo que se observa en el córtex del cerebro. A diferencia de este, el estado del sistema sería similar a una especie de líquido que va cambiando con el tiempo. El fenómeno era inexplicable como individuos, ya que estos claramente carecían de un reloj interno que les hiciera oscilar. Era la interacción entre elementos lo que creaba el orden global, y aquel fue mi primer modelo exitoso.

Un segundo componente terminó de cambiar definitivamente el rumbo de mi destino como científico: la teoría del caos determinista. Ya al final de la carrera, me encontré con que se había descubierto que algunos sistemas matemáticos extremadamente simples podían mostrar comportamientos extraordinariamente complicados. Mediante una sola ecuación era posible crear series de datos tan complejas que parecían el resultado del azar. Y todo indicaba que muchos sistemas reales (de los latidos del corazón al sistema solar) siguen las leyes del caos. En contra del sentido común, la complejidad del mundo podía ser encapsulada en un modelo muy simple en el que podríamos llegar a comprender perfectamente lo que observamos y, sin embargo, ser incapaces de predecir lo que ocurrirá a largo plazo. En un artículo de *Scientific American* titulado «Chaos», sus autores —con los que acabaría investigando— señalaban al final que tal vez incluso el cerebro pueda obedecer este tipo de dinámica. Terminé de leer el último párrafo, cerré la revista y decidí que abandonaría las dos tesis que había comenzado y me dedicaría a estudiar el caos y —si fuera posible— haría una tesis sobre aquel tema. Era una decisión arriesgada, dado que ya había consumido algunos años de trabajo y no sabía muy bien cómo podía terminar aquel cambio de trayectoria.

Un aspecto especialmente atractivo de las posibilidades de la teoría tenía que ver con las fluctuaciones de las poblaciones naturales a lo largo del tiempo. Parecía claro que algunas explosiones y caídas de poblaciones que se habían medido podían corresponder a procesos caóticos. Pero las caídas generaban cierta paradoja: una población que se acerca a valores reducidos se enfrenta a la extinción. ¿No deberíamos esperar que la evolución seleccionara parámetros que alejaran a estas especies del caos? Por aquella época había empezado a colaborar con Quim Valls, un discípulo de Jorge Wagensberg que había desarrollado programas de simulación de

ecosistemas. Quim accedió a aceptarme como doctorando en la Universitat Politècnica de Catalunya (UPC) y pronto descubrimos que los modelos, adecuadamente adaptados a ciertos escenarios, exhibían comportamientos caóticos. Mi futura tesis doctoral se fue orientando hacia la dinámica de poblaciones y sus inestabilidades. Pero mi mayor descubrimiento tuvo que ver con el espacio y la solución a la paradoja de la extinción. La mayoría de los modelos teóricos de ecosistemas, y casi todo lo que uno podía encontrar en los libros de texto, asumía que las poblaciones naturales pueden verse como mezclas de individuos de distintas especies. Esta suposición daba lugar a algunas paradojas. ¿Qué ocurría si considerábamos algo tan simple como el hecho de que las poblaciones crecen y se propagan a través del hábitat que ocupan? Para estudiar este problema empleé un tipo de modelo matemático conocido como «redes de aplicaciones acopladas» (*coupled map lattices*) desarrollado por el físico japonés Kunihiko Kaneko, que permitían estudiar modelos de poblaciones sobre un espacio discreto, algo así como un tablero de ajedrez. El elemento básico era un sistema simple de ecuaciones que describían la interacción entre presas y depredadores. El sistema se había analizado con anterioridad, pero no considerando lo que podía ocurrir si las poblaciones podían además difundirse sobre un área —algo tan obvio que a nadie parecía preocupar—. Lo que sucedía era a la vez sorprendente y revelador. Por una parte, las poblaciones seguían explotando o derrumbándose para acercarse a su extinción, pero todo eso acaecía en cada punto del tablero. La población total, sumando todas las casillas, resultaba ser mucho más estable, incluso constante. El caos local se convertía, gracias al espacio, en estabilidad en el ámbito del sistema. Además, las poblaciones se movían por el espacio propagándose de forma ordenada, formando, por ejemplo, ondas espirales. El caos y el orden coexistían y la paradoja dejaba de existir. Sin saberlo entonces, estaba participando —junto a otros investigadores— en el nacimiento de la que terminaría denominándose ecología espacial, cuya influencia ha sido enorme y ha cambiado muchas de nuestras perspectivas iniciales sobre el comportamiento de los ecosistemas. El otro aspecto importante de mi tesis iba a ser la llamada «criticalidad autoorganizada», una teoría fascinante propuesta por el físico danés Per Bak. Bak había propuesto la idea de que muchos sistemas naturales tienden de forma espontánea a lo que en física —empleando una definición algo laxa— se denominan «puntos críticos», que separan el comportamiento ordenado del desordenado. En los punto críticos se dan comportamientos muy complejos, se generan estructuras fractales y los sistemas pueden reaccionar con rapidez y coherencia a las señales externas. Como descubrimos con Susanna Manrubia, que fue una de mis primeras doctorandas, las selvas tropicales e incluso la evolución a gran escala podrían tener que ver con esta dinámica crítica. Ambos colaboramos con Per Bak, que desafortunadamente murió cuando estaba en el apogeo de su teoría. Aunque a menudo demasiado locuaz para sus audiencias —le encantaba sacar a la gente de sus casillas—, Per Bak era encantador y tenía una curiosidad inacabable por todo tipo de cuestiones. A pesar de que su teoría recibió críticas feroces, creo justo decir que la idea clave era extraordinariamente elegante y, en los últimos años, ha ido ganando aceptación y muchas evidencias experimentales, particularmente de la biología.

Poco antes de terminar la tesis doctoral, decidí dar cinco seminarios sobre teoría del caos en la Facultad de Informática de la UPC, en la que era profesor asociado. Los seminarios incluían sobre todo matemáticas, pero también numerosos ejemplos de ecología, fisiología, evolución, sistemas físicos y unas pinceladas de lo que se dio en llamar caos cuántico. A aquellas conferencias improvisadas acudieron muchos estudiantes y algunos profeso-

res. Algunos de esos estudiantes quedaron enormemente sorprendidos y se convirtieron en visitantes frecuentes de mi despacho. Debo decir que entonces, y durante los años posteriores, trabajar sobre el caos y la complejidad no era muy bien visto. Algún colega del Departamento de Física incluso me sugirió que debía dedicarme «a algo más serio». Aun así, antes de completar mi propia tesis doctoral ya había acordado encargarme de las tesis doctorales de cuatro de aquellos estudiantes. El primero de ellos fue Jordi Bascompte, que terminaría convirtiéndose con los años en una figura internacional de la ecología teórica, si bien durante su tesis no pudo conseguir financiación alguna. Así que, siguiendo una política de hechos consumados, nos instalamos los cinco en el mismo despacho y así empezó el que se convertiría en el Grupo de Sistemas Complejos. Casi sin ninguna financiación, las cuatro tesis llegaron a buen puerto. Por mi parte, seguí visitando a Brian Goodwin y, en una de aquellas visitas, conocí al legendario Stuart Kauffman. Una vez más su nombre me era familiar por el libro de Waddington, aunque ya había leído algunos de sus trabajos clásicos. Varias décadas antes, Kauffman había tenido la visión del genoma como un sistema complejo que debería poseer propiedades emergentes irreducibles a las de los genes. En la visión de Kauffman, la complejidad de los organismos sería una consecuencia de las interacciones entre genes, que ya entonces imaginaba como una red. Inspirado en las ideas de la cibernética, los hoy conocidos como Modelos de Kauffman terminaron por convertirse en uno de los sistemas clásicos en el campo de los sistemas complejos. A raíz de aquella visita surgió la posibilidad de visitar el Instituto de Santa Fe, que empezaba a brillar con luz propia como un lugar singular, situado en una colina cercana a la ciudad de Santa Fe, en mitad del oeste americano. Poco después leí en el libro *Complexity*, de Mitchell Waldrop, cómo se fundó el Instituto, creado por un grupo de científicos extraordinarios (incluyendo algunos Nobel míticos como Murray Gell-Mann o Phil Anderson) dispuestos a explorar las fronteras de lo complejo, abandonando la visión reduccionista de los sistemas y con la vista puesta no solo en la biología, sino también en la sociedad, la historia o la economía. Decidí que, pasara lo que pasara, debía conocer aquel lugar y, finalmente, pude pasar un mes en el que ya entonces era considerado el centro mundial de referencia de la complejidad. Kauffman me recibió en su oficina y, desde el primer momento, empezamos a hablar de todo tipo de problemas y surgió una amistad que ha durado hasta ahora. En el Instituto comprobé que era posible lo que parecía imposible: que investigadores de campos muy distintos pudieran sentarse a hablar de tal forma que las ideas pudieran fluir sin trabas y sin emplear la jerga de cada campo. Aquello era algo que ya habíamos conseguido en Barcelona, donde mi pequeño grupo, carente de financiación ni credibilidad, ya había logrado ese objetivo, pero no existía reconocimiento alguno para el área de la complejidad.

Mis visitas al Instituto de Santa Fe continuaron y, al año siguiente de la primera, volviendo a pie a mi casa —que estaba algo lejos—, un coche se detuvo a mi lado. La conductora, a quien había visto en el Instituto en varias ocasiones, me preguntó si quería que me llevaran. Subí y empezamos a charlar. Me preguntó qué hacía en el Instituto y le expliqué los proyectos que empezaban a dar resultados. Al terminar le pregunté también qué hacía ella en el Instituto y me repondió: «Soy la presidenta». Mientras valoraba la posibilidad de saltar en marcha, Ellen Goldberg se rio de la repentina palidez de mi cara y simplemente siguió preguntándome detalles de lo que hacía. Aquella situación hubiera tenido un desenlace seguramente muy distinto en mi país de origen. Al año siguiente, la presidenta Goldberg vino a mi oficina

y me dijo que debía considerar la posibilidad de ser miembro del Instituto. Me convertí al poco tiempo en profesor externo, formando desde entonces parte de una de las comunidades más creativas que he conocido. Una vez más, ocurría algo que tenía poco que ver con la forma de progresar del mundo académico del que procedía. En cualquier caso, el ambiente del Instituto favorecía la ambición intelectual y terminé formulando mis propias preguntas y un programa de investigación en el que mi ambición principal era, y aún es, descubrir —si existían— las leyes fundamentales que moldean la complejidad biológica. Por aquel entonces la arquitectura de esa complejidad (cómo interaccionan los elementos de un sistema formando una red) aún no era conocida, pero esa situación iba a cambiar drásticamente.

Durante los primeros años logré desarrollar algunas ideas y modelos que demostraban la capacidad de la teoría para comprender fenómenos complejos. Di con una aproximación muy simple a la organización de ecosistemas de alta biodiversidad basada en una aproximación en la que cada especie, formada por un grupo de individuos, se representaría por un conjunto de bolas de un color dado, mezcladas dentro de una urna junto con bolas de otros colores que representarían las demás especies. En el caso más simple, los cambios en estas poblaciones se producirían en forma de extracciones y devoluciones aleatorias, siguiendo las reglas del «modelo de Polya» formuladas por el economista Brian Arthur, que se encontraba en aquella época en el Instituto. La idea es muy simple: se toma una bola al azar, se devuelve y se reemplaza otra bola con una del mismo color que la que hemos sacado. De cuando en cuando, cometemos un error y una de las bolas devueltas tiene un color distinto (equivalente a una mutación o la inmigración de un individuo desde otro lugar). Unos años antes, Arthur había empleado este modelo de Polya para estudiar, y demostrar, la existencia de soluciones múltiples a la dinámica de sistemas económicos. En aquellos estudios se asumía una urna infinita y un conjunto finito de especies (colores). Cuando estudié el problema empleando una urna con un número fijo de bolas y un número indeterminado de colores, descubrí que el sistema tendía a un estado en el que la gran mayoría de colores estaban representados por unas pocas bolas, y algunos, muy pocos, dominaban por completo. La ley estadística podía determinarse mediante un modelo matemático muy simple, y lo más interesante es que se correspondía con las observaciones de abundancia de especies en los ecosistemas. Con reglas así de simples, que podían generalizarse para tener en cuenta el tipo de interacciones entre elementos (competencia, depredación o mutualismo), era posible obtener la gran mayoría de propiedades observadas en ecosistemas reales, pese a que, en muchos sentidos, existe un buen número de detalles que ni siquiera es considerado en el modelo. Aunque no lo sabía cuando empecé a desarrollar este modelo, el ecólogo americano Stephen Hubbell estaba ultimando una teoría similar (la teoría neutra de los ecosistemas) que terminó por convertirse en una referencia clásica. Esta teoría apoyaba de forma evidente la idea de que la complejidad del mundo puede ser capturada, en buena medida, por modelos simples. De algún modo, debe existir una «física» de la biología que empezamos a entender.

En los años siguientes me vi inmerso en diversos problemas relacionados con las inestabilidades en virus y en cáncer. En colaboración con colegas de la Universidad de Yale, publicamos uno de los primeros artículos que demostraba (empleando datos experimentales y modelos) que los tumores muestran una gran diversidad de mutaciones en el espacio; esto es, distintas zonas del tumor tenían distintas mutaciones. Este resultado contradecía la visión dominante

de los tumores como sistemas «clonales» en los que las mutaciones más ventajosas dominarían el tumor, haciéndolo espacialmente homogéneo. Nuestro estudio demostraba que los tumores se parecían de hecho a los ecosistemas diversos en los que —como ya habíamos demostrado hacía una década— el espacio desempeña un papel fundamental al sostener una gran diversidad. Asimismo, junto a mi colega Thomas Deisboeck, de Harvard, propuse la idea de que el cáncer evoluciona hacia un estado de desorden que posee un límite crítico de inestabilidad más allá del cual el tumor es incapaz de progresar. Esta idea ha sido por ahora demostrada solo de forma indirecta, pero parece apoyada por la evidencia procedente de los sistemas celulares in vitro, el estudio de la evolución de genomas y datos clínicos. De ser correcta, sería posible diseñar estrategias antitumorales basadas en hacer crecer la inestabilidad del cáncer por encima del punto crítico, más allá del cual la población anómala sería incapaz de sobrevivir. Este problema se podía formular de forma teórica empleando modelos matemáticos que se habían desarrollado en el estudio de poblaciones de virus, demostrando una vez más las posibilidades de los modelos capaces de trascender sus campos de aplicación.

Con el cambio de siglo, se produjo una revolución en el campo de los sistemas complejos que ha dominado en buena medida todo lo sucedido hasta ahora. Dos estudios aparecidos en *Science* y *Nature* demostraban que la estructura de las redes que definen las interacciones entre elementos de un sistema real estaba lejos de ser simple. Así, al emplear a los individuos en una red social, los ordenadores en internet o los nodos de una red eléctrica, se pudo comprobar que estos sistemas definen un «mundo pequeño» (*small world*) en el que dos elementos elegidos al azar están separados por un número muy pequeño de saltos en la red. Por otra parte, las redes estudiadas mostraban, en general, una gran heterogeneidad: la mayoría de elementos estaban conectados tan solo con uno, dos o unos pocos componentes, mientras que un número muy reducido de estos estaba hiperconectado. Una vez más, era posible demostrar que estas propiedades están relacionadas con reglas muy fundamentales de crecimiento y conexión de los elementos de la red. Estas ideas llegaban años después de que mi laboratorio de sistemas complejos hubiera estado estudiando modelos de redes genéticas, ecológicas o artificiales. Durante años nos habíamos hecho muchas preguntas sobre los orígenes de la complejidad, y de repente disponíamos de un marco teórico incipiente en el que apoyarnos. En el plazo de apenas un año realizamos un trabajo pionero en el estudio de las redes ecológicas, lingüísticas, tecnológicas y celulares. Estos estudios tuvieron un gran impacto, que llegó a las páginas del *The New York Times* y otros medios. Recuerdo aquel tiempo como enormemente intenso y apasionante, y además pude compartirlo con un grupo excepcional de estudiantes que incluyen a Sergi Valverde, Jose Montoya y Ramon Ferrer i Cancho, así como posdoctorandos no menos brillantes, en particular Romualdo Pastor Satorras y Eric Smith. Hubo que definir las redes del lenguaje humano —hasta entonces inexistentes— y demostrar que su arquitectura podía explicar tal vez algunas de sus extrañas propiedades (como su ambigüedad y enorme eficiencia). Nuestros análisis de las redes ecológicas rebelaron, por un lado, una gran estabilidad a la pérdida al azar de especies, pero una enorme fragilidad a la extinción de especies clave. El análisis de redes tecnológicas, en particular de las que definen las interacciones entre partes de un programa de ordenador, demostró que —pese a ser objetos resultantes del diseño humano— eran en muchos sentidos similares a las redes de interacciones entre proteínas en las células. Esta observación tenía una interpretación profunda que descubrí durante una estancia en Santa Fe. Intentando entender la forma en que la evolución puede generar redes genéticas

de complejidad creciente, había desarrollado un modelo complicado en el que distintos genes producían proteínas que activaban o reprimían otros genes. El modelo incorporaba un proceso de error basado en la duplicación al azar de un gen (y sus interacciones) que permitía estudiar el efecto del crecimiento. En aquellos días ya se empezaban a conocer algunas propiedades de las redes de interacción entre proteínas que parecían indicar la existencia de un mundo pequeño celular a la vez que mostraban una gran heterogeneidad. Mi idea era comprobar hasta qué punto las funciones de los genes se veían alteradas por este proceso y si mantener la estabilidad o la homeostasis tenía alguna relación con la arquitectura de la red. Pero el modelo era lento y difícil de estudiar y, en algún momento, decidí cortar por lo sano y olvidarme de genes, funciones y proteínas. Imaginemos —pensando como un físico— que tenemos un conjunto de bolas conectadas por cables. Elegimos una al azar y la «duplicamos»: añadimos una bola nueva que es una copia de la elegida y que también copia sus conexiones. Sabemos por el estudio del genoma que muchas de estas conexiones, ahora redundantes, se pierden con rapidez, a la vez que de cuando en cuando se ganan otras nuevas. Al emplear estas reglas simples, carentes de conexión con la funcionalidad de las redes celulares, ocurría algo sorprendente: era posible obtener la mayoría de las propiedades estructurales observadas en el mundo real. El proteoma simulado poseía una configuración en mundo pequeño y la misma estructura heterogénea que la que ya conocíamos. Y no requería nada más que las matemáticas asociadas a las reglas anteriores.

Aquello parecía apoyar una idea formulada por el biólogo francés François Jacob, que indicó muy bien que la evolución biológica se produce, en muy gran medida, mediante el bricolaje. A diferencia de un ingeniero, que en principio puede prescindir de todo lo anterior, la evolución debe emplear aquello de lo que dispone y reutilizarlo. El proceso de duplicación y reconexión sería un ejemplo claro, y mis resultados indicaban con contundencia que buena parte del orden estructural observado era, como diría Kauffman, «orden gratis». Pero de hecho, lo observado iba más allá, dado que indicaba que propiedades deseables de estabilidad frente a perturbaciones o mutaciones no tenían por qué ser intensamente seleccionadas por la evolución. Serían una consecuencia inevitable del bricolaje, y las estructuras generadas podrían entonces ser empleadas para realizar las funciones adecuadas y hacerlo de forma muy eficiente. La existencia de una parte importante de la complejidad biológica pero también tecnológica podría ser simplemente inevitable.

La teoría de redes complejas fue tomando forma a lo largo de los años, y es actualmente una de las teorías que mayor impacto han tenido, hasta el punto de que ha invadido todo tipo de disciplinas, desde las ciencias duras a las humanidades. Personalmente, fue un elemento esencial en la búsqueda de las leyes fundamentales y, durante estos años, nos ha servido de marco teórico sobre el que seguir buscando respuestas a preguntas difíciles, incluyendo el origen del lenguaje humano y su naturaleza o las similitudes y diferencias entre evolución natural y artificial.

La última aventura vino de la mano de la biología sintética y la computación biológica. El siglo XXI empieza con los inicios de una nueva forma de manipular los sistemas celulares que da un salto cualitativo en relación con la ingeniería genética tradicional. La llamada «biología sintética» surge como una aproximación casi de ingeniería a la biología. La idea de fondo es que podemos rediseñar las redes de interacciones moleculares del interior de las células

para que estas lleven a cabo funciones totalmente nuevas. El alcance de este campo está aún por ver, pero sin duda ya ha cambiado nuestra percepción de lo que puede llevarse a cabo en términos de modificar la vida. Mi laboratorio se implicó en diversos proyectos relacionados con este campo, incluyendo un proyecto internacional que intentó sin conseguirlo crear una célula artificial y posteriormente otro proyecto exitoso en el que desarrollamos una nueva forma de construir algo así como «ordenadores biológicos». La posibilidad de hacer que conjuntos de células modificadas genéticamente lleven a cabo procesos de detección y respuesta preprogramados tiene una gran importancia: podemos crear sistemas que detecten y eliminen células tumorales o incluso hacer que células de tejidos distintos a los «naturales» lleven a cabo las funciones necesarias cuando se producen daños en los tejidos originales.

Muchas otras salivaciones biomédicas están siendo consideradas en la actualidad. Un problema de esta aproximación es que el diseño de estos sistemas tiene diferencias sustanciales comparadas, por ejemplo, con el diseño de circuitos electrónicos. En un circuito convencional, cada componente (resistencias, diodos, transistores, etcétera) está conectado con otros a través de cables exactamente iguales. En el interior celular, la situación es bien distinta. Un gen da lugar a una proteína que, al actuar sobre otro gen o genes, cumple la función de «cable». Pero los cables no pueden ser idénticos, ya que en ese caso la comunicación entre genes sería inútil, puesto que cualquier gen influiría sobre cualquier otro indistintamente (podríamos decir literalmente que «se cruzarían los cables»). Distintas proteínas permiten evitar esta ambigüedad, pero ello implica que los cables moleculares poseen una identidad. Si queremos diseñar un circuito complejo que detecte señales y tome decisiones, deberemos también emplear o diseñar distintos cables. El problema es que la dificultad de este diseño crece con rapidez, y cuantas más conexiones distintas se añadan, más probable es que alteremos otras partes del circuito celular. El resumen es que, en general, más allá de un tipo de conexión, los problemas se multiplican. Por otra parte, la biología sintética se formuló originalmente como un equivalente biológico del diseño de circuitos, que en su versión tradicional implica que podemos construir cualquier cosa simplemente combinando piezas existentes a la manera de un Lego. Sin embargo, la gran mayoría de sistemas biológicos diseñados para realizar una tarea (ya sea la síntesis de un fármaco, la detección de una señal química o la respuesta a estímulos externos) solo sirven para la función para la que han sido creados y no pueden ser reutilizados.

¿Podemos escapar de las limitaciones impuestas por la biología? La respuesta es afirmativa. Desarrollando un concepto teórico que había explorado años atrás en colaboración con mi colega el físico Javier Macía, y utilizando células de levadura modificadas genéticamente en el laboratorio de los investigadores Francesc Posas y Laia de Nadal, pudimos crear librerías de células que servían de módulos básicos de nuestros circuitos. Pudimos demostrar que, rompiendo algunas reglas básicas del diseño estándar, era posible diseñar circuitos multicelulares que podían llevar a cabo funciones complejas a la vez que permitir una enorme flexibilidad combinatoria. En cierta medida, imitábamos otras formas de computar que se dan en la naturaleza, como es el caso de los insectos sociales. Las hormigas, en particular, procesan información de forma distribuida, y nuestro sistema de manipular células nos permitía acercarnos a este tipo de computación. Este nuevo tipo de ingeniería abre las puertas a un gran número de aplicaciones biomédicas pero también permite volver a las cuestiones fundamentales. Podemos plantear escenarios que hace años eran de ciencia ficción, como rediseñar partes de un órgano que falla

«recolocando» las funciones ausentes en otros tipos de células totalmente ajenas a las del órgano original. Durante los inicios de aquella colaboración se produjo un giro inesperado en el camino. La Fundación Botín me eligió como investigador para su apuesta por la ciencia y la investigación. Esta iniciativa, totalmente singular en nuestro país, apoyaba a grupos de investigación considerados punteros en las fronteras de la biomedicina. Alguien me avisó de que un representante de la Fundación vendría a visitarme en una semana, y lo que había oído hasta entonces era lo bastante impresionante como para quitarme el sueño. La fundación apoyaba, a lo largo de cinco años, con una fuerte inversión, cualquier investigación que llevara a cabo el grupo, con total libertad y con un aliciente adicional que era la posibilidad de, llegado el caso, trasladar los resultados de la investigación al mundo aplicado. Llegó el día y apareció en mi despacho un hombre con un maletín que representaba a la Fundación Botín y que me solicitó muy formalmente si podíamos hablar un rato. Nos sentamos y enseguida intenté explicarle —como había ensayado mentalmente en los días previos— qué hacíamos en mi laboratorio. Me preocupaba que la trayectoria eminentemente teórica de mi laboratorio fuera un obstáculo para ser elegidos. Al minuto, mi visitante me interrumpió: «No hace falta que se explique, nosotros ya sabemos quién es». Me pidió con gran educación que le dejara explicarse: «Vengo a hacerle una propuesta y pedirle un favor personal». La propuesta era esencialmente aquello de lo que ya había oído hablar. Mi interlocutor se presentó como médico con experiencia en el mundo de la investigación y con una clara preocupación por el estado de la ciencia en nuestro país. Su propuesta era única en nuestro ambiente. Se confiaba en el investigador y en que desarrollaría, con la mejor voluntad y talento, sus proyectos de investigación sin interferencias por parte de los benefactores. Todo eran ventajas, y a medida que el doctor Pedro García Barreno explicaba aquellas ventajas inverosímiles, me iba preguntando si aquello sería realmente posible. Al terminar, con la misma educación que al principio, me dijo: «Sería un honor que aceptara nuestra propuesta». No supe qué decir, más allá de un incrédulo «sí» del que aún no me he recuperado del todo. Esta iba a ser la oportunidad de hacer lo que no era posible de otro modo: crear un laboratorio experimental en el que pudiéramos desarrollar nuestras ideas sobre sistemas biológicos sintéticos en el mundo real, más allá de nuestras pizarras con ecuaciones. Creamos así nuestro laboratorio de biología sintética en el que desarrollamos en la actualidad líneas de investigación completamente nuevas y con las que esperamos comprender la biología a la vez que exploramos sus alternativas. Puede decirse realmente que un sueño se ha hecho realidad.

La biología sintética nos ofrece una oportunidad única para acercarnos al problema de los orígenes de la complejidad. En lugar de observar la realidad o construir modelos, tenemos ahora la posibilidad de modificar los propios organismos vivos y crear nuevas formas de interacción entre células, alterar su envejecimiento, imprimir órganos y tejidos e incluso comunicar ordenadores y células entre sí. Entre otras posibilidades, y estas son algunas de las que estudiamos en la actualidad en mi laboratorio, podemos recrear algunas de las grandes invenciones de la evolución, incluyendo la multicelularidad, la simbiosis, la cooperación e incluso, tal vez, ciertos tipos de inteligencia o comunicación complejas. Las preguntas y los desafíos se acumulan: ¿podemos convertir células simples en microrrobots capaces de comunicarse y actuar como hormigas? ¿Podríamos emplear nuestras hormigas sintéticas para explorar el interior de un organismo y reconstruir partes dañadas? ¿Podremos diseñar microórganos capaces de integrarse en nuestro cuerpo y llevar a cabo nuevas funciones? ¿Podremos comunicarnos con

el microbioma para hacer que responda a señales que permitan actuar sobre estados patológicos? ¿Serán los sistemas sintéticos resultantes similares a los que se desarrollaron durante la evolución de nuestra biosfera? ¿Observaremos por el contrario alternativas que nunca se dieron, o que tal vez solo nosotros podemos crear? Las respuestas a estas preguntas puede arrojar luz acerca de la naturaleza de los sistemas vivos y su evolución. Tal vez nos muestren mundos alternativos que nunca se han dado en nuestro planeta. Quizá puedan de nuevo llevarnos a considerar nuestra capacidad de modificar nuestros propios organismos y encontrar nuevas formas de abordar enfermedades ahora intratables. Creo que debemos tener en cuenta incluso una posibilidad hasta hoy no contemplada en nuestra relación con el planeta en el que habitamos y que vamos a perder si no hacemos algo. A lo mejor es el momento de considerar nuestras posibilidades de rediseñar la biosfera empleando aquello que la biología sintética nos pueda ofrecer. Si los científicos tenemos una perspectiva privilegiada del cosmos, es porque también podemos proyectar nuestras teorías y modelos hacia el futuro. En tan solo unas pocas generaciones humanas, el mundo, tal como lo conocemos, puede cambiar drásticamente, cruzando una de las transiciones críticas que separan una biosfera habitable de otra completamente impredecible. En nuestras manos puede estar alguna forma de no solo curar nuestras enfermedades, sino también, empleando las palabras de James Lovelock, curar nuestro propio planeta.

Referencias

B. Corominas, J. Goñi, R. Solé y C. Rodríguez-Caso, «On the origins of hierarchy in complex networks», en *PNAS*, vol. 110, 2013, pp. 13316-13321.

J. Macía, F. Posas y R. Solé, «Distributed computation: the new wave of synthetic biological devices», en *Trends Biotechnol*, vol. 30, 2012, pp. 342-349.

S. Regot, J. Macía, N. Conde, T. Peeters, F. Kentaro, S. Hohmann, E. de Nadal, F. Posas y R. Solé, «Distributed biological computation with multicellular engineered networks», en *Nature*, vol. 469, 2011, pp. 207-211.

R. Sole, *Phase transitions*, Princeton, Princeton University Press, 2011.

J. Macía y R. Solé, «Distributed robustness in cellular networks: insights from synthetic evolved circuits», en *J R Soc Interface*, vol. 6, 2009, pp. 393-400.

J. Macía y R. Solé, «Distributed robustness in cellular networks: insights from evolved digital circuits», en *J R Soc Interface*, vol. 442, 2008, pp. 259-264.

J. Mestres, E. Gregori, S. Valverde y R. Solé, «Data completeness: the achilles heel of drug-target networks», en *Nat Biotechnol*, vol. 26, 2008, pp. 983-984.

A. Munteanu y R. Solé, «Robustness and neutrality in evo-devo networks: emergence of lateral inhibition», en *PLoS Comput Biol*, vol. 4, n.º 11, 2008.

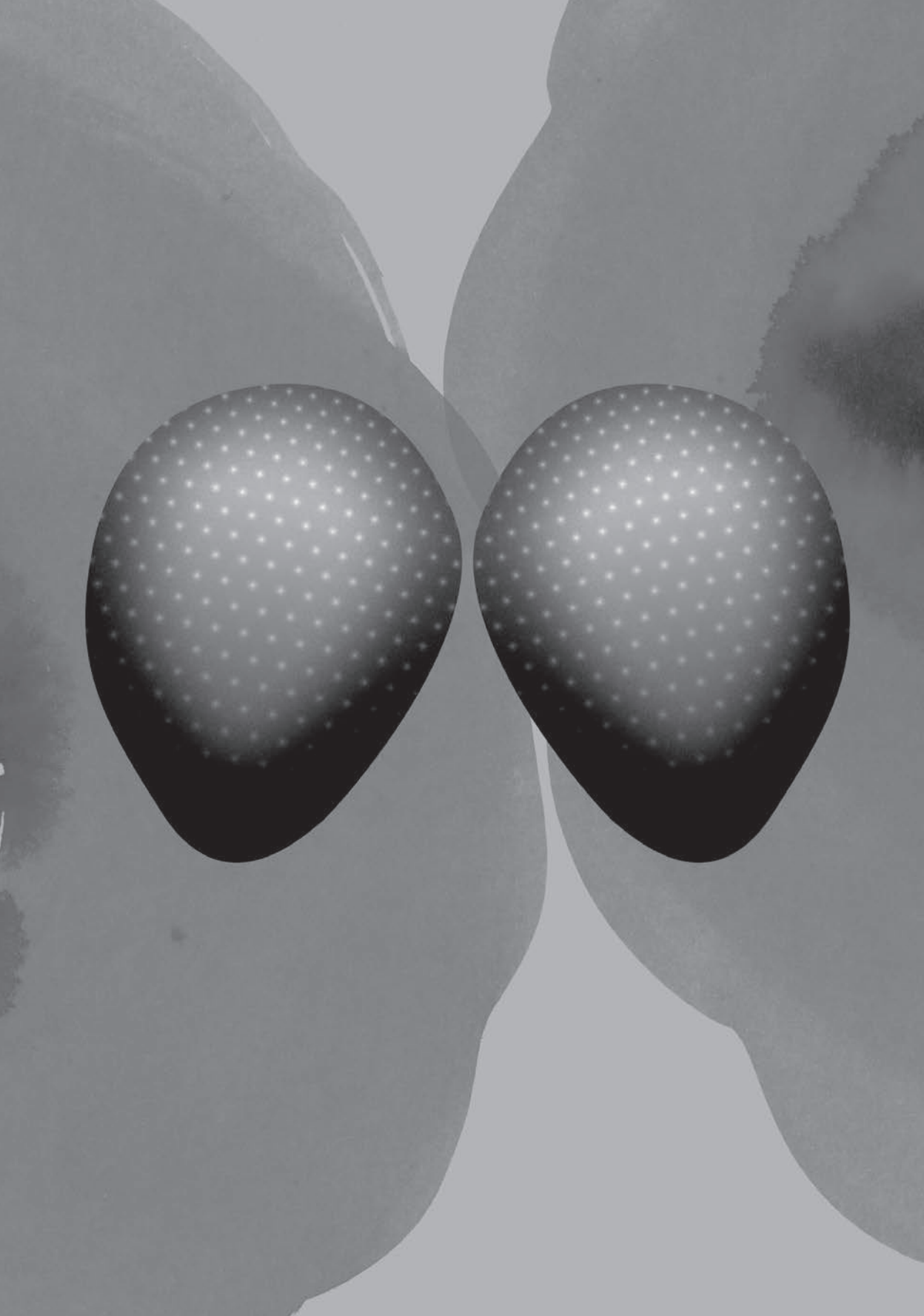
R. Solé *et al.*, «Synthetic protocell biology: from reproduction to computation», en *Phil Trans R Soc B*, vol. 362, 2007, pp. 1821-1829.

J. M. Montoya, S. Pimm y R. Solé, «Ecological networks and their fragility», en *Nature*, vol. 442, 2006, pp. 259-264.

R. Solé y J. Bascompte, *Self-organization in complex ecosystems*, Princeton, Princeton University Press (Monographs in population biology), 2006.

C. Rodríguez-Caso, M. A. Medina y R. Solé, «Topology, tinkering and evolution of the human transcription factor network», en *FEBS J*, vol. 272, n.º 23, 2005, pp. 6423-6434.

R. Ferrer y R. Sole, «Least effort and the origins of scaling in human language», en *PNAS*, vol. 100, 2003, pp. 788-791.



GUSTAVO GUINEA

APRENDIZ DE TODO, MAESTRO DE NADA

24

Un soneto me manda hacer Violante... A modo de descargo

Me resulta incómodo escribir sobre mí mismo. Ni soy tan viejo como para ofrecer sabrosos destilados de la experiencia, ni mi recorrido vital sobresale por su calidad o extravagancia. No es mi afición —tampoco mi oficio— la escritura, y nunca he tenido diario, aparte de las escuetas libretas de laboratorio. Por ello aviso de que no será tarea fácil atravesar estas páginas sin sucumbir al aburrimiento o al enfado —o quizá a los dos juntos— para dar prematuro fin a su lectura. Para aquellos decididos a recorrerlas recomiendo una lectura diagonal, sufrido recurso que intentaré favorecer con párrafos todo lo concisos que mi memoria y mi habilidad redactora permitan.

A aquellos que aún se pregunten por qué, pese a lo dicho, he redactado estas líneas, les diré que lo he hecho siendo fiel a uno de los principios que han marcado mi vida o, al menos, a uno que siempre me he tomado muy en serio: la obediencia. Hace ya unos meses, el profesor Pedro García Barreno me dirigió una amable carta solicitando un artículo autobiográfico —este— para compilar en la memoria que, con ocasión del décimo aniversario del Programa de Ciencia de la Fundación Botín, iba a redactarse. Como yo soy bien mandado, y más aún cuando el que lo hace cuenta con mi reconocimiento y respeto —como es el caso—, obedecí y me puse manos a la obra. El resultado están ustedes a un rato de comprobarlo si su obstinación supera su aburrimiento.

Burla burlando van los tres delante... Primeros años

Nací en Madrid en 1962 en el seno de una familia que –afortunadamente para mi futuro– valoraba mucho mi educación. Mi padre tenía estudios universitarios y había reunido una biblioteca cercana al millar de volúmenes que me enseñó a tratar con reverencia. Hasta prácticamente entrada la adolescencia, yo tenía estrictamente prohibido tocar libro alguno, salvo demostración previa y fehaciente de que me acababa de lavar las manos. No he mencionado que soy hijo único de una pareja mayor —muy mayor para los usos de la época, e incluso de los actuales—, nacido cuando mi padre rondaba los sesenta años. Ese hecho, el ser hijo único, y el enorme número de horas en contacto con una biblioteca que, por falta de espacio en otras dependencias, también forraba las paredes de mi habitación, creo que son en buena medida responsables de mi rumbo personal y científico. La atención especial que padres y familiares cercanos me dispensaron me permitió leer con destreza y conocer las primeras reglas a edad temprana. Sigo recordando con frustración el día de mi ingreso como alumno de primaria al Colegio Salesiano San Juan Bautista de Madrid, en donde —cumpliendo la reglamentación vigente— me destinaron a una clase con compañeros de mi misma edad a los que adelantaba en conocimientos.

El resultado fue un año muy aburrido y la primera decepción que me causaba la vida académica.

Pese al comienzo torcido, recuerdo los años de colegio con felicidad. Sin especiales agobios aun cuando la exigencia académica era alta. Se estilaba mandar bastantes tareas para casa y yo me tomaba muy en serio la labor. Como ya he señalado, soy bien mandado y no me cuesta reconocer la autoridad ni darle crédito, por lo que en opinión de todos mis profesores era un buen alumno, sin llegar a las categorías de «empollón» o «pelota». En expresión de hoy en día, podría decirse que estaba en el top 10 de mi curso.

En los aspectos deportivos, aunque no sobresalía, tampoco era un «paquete». La necesidad de tener que usar gafas a partir de los nueve años para corregir una miopía hereditaria —mi padre y mi madre perderían la vista por esta causa— moderó mi afición por los deportes de contacto, y me encaminó hacia el montañismo y la escalada, actividades que aún practico.

Desde muy pequeño sentí una especial atracción por la matemática y la geometría aplicada y su asombrosa —a mi parecer— capacidad para resolver problemas cotidianos y predecir el comportamiento de nuestro entorno físico. Siempre he tenido bastante habilidad mecánica y durante mi infancia me gustaba idear y resolver problemas relacionados con mecanismos. Uno de los logros de aquella época —alrededor de los once o doce años— que recuerdo con orgullo fue predecir la geometría de salida de una churrera utilizada en una fábrica de patatas fritas cercana a mi domicilio. Me preguntaba cómo podían fabricarse churros de directriz cerrada a partir de un hilo rectilíneo de masa solo interrumpido mediante el movimiento en forma de guillotina del dedo del operario. La corroboración experimental del acierto de mi predicción —cuando pude ver de cerca la churrera— fue, sin ninguna duda, mi primera satisfacción científica.

Durante mi formación en el colegio tuve la fortuna de contar con excelentes profesores de matemáticas, de física y de química que me enseñaron algo más que un conjunto de reglas y procedimientos. El rigor y la amenidad de don Pascual, don Luis y don Bartolomé han tenido mucho que ver en mi entusiasmo por la física y mi posterior desarrollo profesional.

Yo pensé que no hallara consonante... Bachillerato

Con la incorporación al bachillerato, también en el Colegio Salesiano y con los excelentes profesores de los estudios primarios, mi afición por las matemáticas y, sobre todo, por la física, cristalizó en una vocación que ha acompañado mi vida desde entonces.En esos años adquirí la madurez matemática necesaria para manejar problemas crecientemente complejos. El descubrimiento del cálculo infinitesimal e integral y del álgebra vectorial abrió mi mente a un universo de modelos físicos en el que me movía con delectación. En este aspecto, creo que los programas de estudios pasados eran superiores a los actuales. En otros ámbitos habremos avanzado, pero me causa pena y decepción comprobar que muchos de los contenidos de física, química y matemáticas aprendidos en mi bachillerato hoy en día o no se imparten o lo hacen de forma parcial e incompleta.

Me gustaba especialmente consultar los libros técnicos de mi padre, algunos bastante antiguos, y contrastar en ellos lo aprendido en mis modernos libros de texto. La construcción del lenguaje, las extrañas unidades físicas, el uso de teorías ya superadas y las parcas ilustraciones a plumilla ejercían sobre mí una seducción casi hipnótica. Aprendí mucho intentando trasladar conceptos y teorías entre unos y otros, como quien traduce entre idiomas diferentes.

El aprendizaje teórico recibido me llevó desde muy temprano a ser un experimentador impenitente con todo tipo de objetos. Además de mis juguetes, el instrumental incluía —para disgusto y desazón de mis progenitores— los relojes y las máquinas de vapor en miniatura a las que era aficionado mi padre, y también el ajuar electrodoméstico. Quizá los mayores problemas venían de que, durante mi adolescencia, el porcentaje de éxito en el proceso desmontaje-montaje nunca alcanzó el 100%, superando raras veces el 70%. Desde entonces guardo un gran respeto y admiración por los diseñadores de juguetes, relojes y otros mecanismos.

Junto a mi afición por los mecanismos, durante mi adolescencia desarrollé una verdadera pasión por los libros que me llevó a leer buena parte de la biblioteca de mi padre y muchos otros libros más. Echando la vista atrás, no recuerdo otra época de mi vida de mayor fruición lectora, siquiera hoy en día que, debido a mi actividad académica, debo estar al tanto de nuevas publicaciones. Llevado del ardor literario, en más de una ocasión malversé los fondos que mis padres habían destinado para la compra de los libros necesarios y obligatorios de mis estudios adquiriendo otros no necesarios pero excelentes. Ese fue el caso de la frustrada compra del libro de matemáticas de 2º de BUP, que cedió su lugar a los tres volúmenes del curso de física de Alonso y Finn[1] por un monto unas cuatro o cinco veces superior al autorizado. Debo decir con orgullo que aún guardo y consulto con relativa frecuencia dichos volúmenes.

También de aquella época data el inicio de mi interés por la filosofía y la metafísica, quizá, de nuevo, por haber topado en esta área con un profesor que me explicó con rigor los conceptos básicos sobre los que construir y desarrollar las diferentes teorías. Ni que decir tiene que, como buen hijo de mi época —los años setenta—, leí mucho a filósofos modernos y contemporáneos. Solo bastante después de haber cumplido los treinta he vuelto la vista a los filósofos clásicos y medievales para confirmar que es esta la filosofía que me parece más humana y natural. Física y metafísica son dos caras de la misma moneda y mis dos grandes pasiones intelectuales.

Y estoy a la mitad de otro cuarteto... Formación universitaria

Los buenos resultados que coseché en el bachillerato, en especial en las asignaturas más técnicas (Matemáticas, Física, Química, Dibujo), marcaron claramente la decisión sobre la carrera universitaria que realizar. La marcaron sobre todo para mis padres, que deseaban a toda costa ver confirmada en unos estudios de ingeniería la buena trayectoria de su hijo como bachiller. Sin embargo, a mí me gustaba la física.

El conflicto se resolvió, una vez más, aplicando el principio de autoridad. Como hijo obediente, me pasé a la ingeniería. Y puestos a elegir, elegí Telecomunicaciones, carrera que con su mundo de electrones y ondas se me hacía más cercana a la física. Una vez aprobadas, y con buena nota, las pruebas de acceso a la universidad, seleccioné en el impreso los estudios de Ingeniería de Telecomunicaciones en la Universidad Politécnica de Madrid (UPM), y luego —porque había dos casillas más que rellenar— Aeronáuticos y Caminos en la misma universidad. Por este orden.

Y debo hacer una pausa para decir que es este punto de mi vida el que —a la vuelta de los años— me ha ayudado a identificar la existencia de un sentido profundo, un hilo conductor de las decisiones que, tomadas o no con mi pleno asentimiento, jalonan mi vida. Ya no creo en las casualidades.

A pesar de la buena calificación obtenida en la selectividad, muy por encima de las notas de entrada de cualquiera de las tres carreras elegidas, el azar o la desidia —o las dos— de la administración académica me llevó a ser admitido en la última de ellas: Ingeniería de Caminos, Canales y Puertos. Reclamé sin éxito, no por falta de razón sino porque a principios de los años ochenta el primer curso de todas las ingenierías era común (sobre el papel de los planes de estudio), y no me quedó otra que aceptar cursarlo en la Escuela de Caminos para luego, si no desistía de mi empeño, pasar a hacer segundo curso en Telecomunicaciones. Ese fue mi siguiente encontronazo con la administración académica.

Esperando el comienzo del curso en Caminos, ocupé el verano presentándome a unas oposiciones para operador técnico en la Compañía Telefónica. El dinero nunca sobra y el temario versaba en su mayor parte sobre matemáticas y física de bachillerato. Yo esperaba, además, desarrollar en el futuro una brillante carrera como ingeniero de Telecomunicaciones, una vez superado el transitorio de Caminos. Este plan tampoco llegaría a cumplirse. Aprobé los exámenes de la oposición y fui el único opositor eliminado en el reconocimiento médico oftalmológico. Resultaba que a la miopía heredada de mis padres —que no era mayor problema— había añadido por mi cuenta una deuteranopía que me dificultaba distinguir los colores rojos y verdes matizados —no los de los semáforos—. El test de Ishihara fue despiadado. No acerté ni una. Pero no soy un hueso fácil de roer y, cuando al poco tiempo se convocaron nuevas oposiciones de mecánico —también para la Compañía Telefónica—, me presenté otra vez. Ahora contaba con la inestimable ayuda de un amigo que me había hecho una copia completa del libro de tests de colores de Ishihara. De nuevo aprobé la parte teórica y me dirigí confiado al examen médico con la memoria repleta de los números que debería ser capaz de identificar en cada página. Pero el oftalmólogo era diferente y el libro también. El fracaso volvió a ser rotundo.

En las desventajas siempre he buscado oportunidades. La conciencia de mi trastorno visual influyó decisivamente en la decisión sobre mi futuro: pensé —ahora creo que erróneamente— que si acababa Telecomunicaciones no pasaría los rigurosos controles médicos de las empresas del sector. Decidí entonces proseguir mis estudios de Ingeniería de Caminos en donde, por otra parte, no me había ido nada mal en el primer curso. Terminé los seis años de carrera en 1986 y dos años más tarde me licenciaba en Ciencias Físicas por la

Universidad Complutense de Madrid, una segunda carrera que había comenzado mientras cursaba tercero de Ingeniería de Caminos.

Pese a los avatares del comienzo, lo cierto es que la carrera de Ingeniería de Caminos me gustó mucho, la acabé con cierta brillantez y la considero mi profesión, aunque ejercida fundamentalmente desde la docencia universitaria.

Por el primer terceto voy entrando... Doctorado y primeros pasos en investigación

La relación con el Departamento de Ciencia de Materiales —mi segunda casa en todos los sentidos, y aun la primera si contabilizo el tiempo pasado en ella— comenzó en el verano de 1983, tras acabar el tercer curso. Yo buscaba realizar prácticas en un laboratorio y no en una empresa, y me dirigí al laboratorio de Física. Los profesores se sorprendieron. Era muy poco habitual que un alumno de Ingeniería se interesara por la investigación. Mi vida seguramente habría sido muy diferente si mi petición hubiera sido rechazada, pero no lo fue. Bien al contrario, el director del departamento, Manuel Elices —mi maestro y mentor desde entonces—, me abrió sus brazos y, tras varios veranos de colaboración, tomé la firme decisión de realizar el doctorado y dedicarme a la investigación. Y eso por encima de una nueva pasión aflorada en la carrera, los puentes. Lamento que la oferta del profesor Javier Manterola de incorporarme a su oficina de proyectos —Carlos Fernández Casado SL, un gabinete de primera línea mundial— no pudiera ser correspondida. No fue fácil. Mis padres y mi novia —hoy mi mujer— creo que nunca lo acabaron de entender. El hilo de mi vida tiraba de mí, y no me iba a dejar escapar.

Tengo una curiosidad esencial sobre el funcionamiento del mundo natural —también del sobrenatural aunque ahora no es momento de hablar de esto— y pocas cosas escapan a ella. Al poco de mi llegada como becario de doctorado al Departamento de Ciencia de Materiales de la UPM se averió —se quemó— la junta de la culata de un viejo Renault 5 que utilizaba y que había heredado de un familiar. Ni corto ni perezoso, aprovechando el abundante instrumental quirúrgico-mecánico disponible en el taller del departamento, me dispuse una mañana temprano a operar. Horas más tarde el motor mostraba sus vergüenzas cuidadosamente ordenadas en el suelo. Válvulas, retenes, balancines, levas, arandelas, tuercas y demás componentes esperaban inquietos a ser devueltos a sus intersticios originales. Mi osadía y la inestimable colaboración de David Culebras, técnico del laboratorio, habían hecho la primera parte del trabajo.

Muchos de mis compañeros nos dirigieron palabras de ánimo, aunque casi siempre entreveradas de conmiseración o escepticismo. Sorprendentemente para algunos, a la hora de la comida el motor volvía a rugir. ¡Habíamos montado todas las piezas y no había sobrado ninguna! Es más, el motor arrancaba con un ralentí más que notable, y eso que había sido ajustado con medios mecánicos no especializados. Aquel día me gané el respeto de buena parte del laboratorio, incluso de algunos reluctantes que solo años después me lo han confesado abiertamente.

Mi tesis doctoral, finalizada en 1990, tuvo el título de «Medida de la energía específica de fractura del hormigón», y fue codirigida por Manuel Elices Calafat y Jaime Planas Rosselló. No soy capaz de expresar todo lo que he aprendido al lado de ellos. Aun a costa de recibir su reprimenda cuando lean estas líneas —pues son muy modestos, como corresponde a su gran magnanimidad—, diré que solo he conocido en toda mi vida a otra persona cuya inteligencia, brillantez intelectual y calidad personal se les pudiera comparar. Es un privilegio. Y lo he disfrutado y lo disfruto como tal.

Durante mis años de formación investigadora me especialicé en Ciencia de Materiales, adentrándome en las relaciones existentes entre la composición y estructura de los materiales y su comportamiento mecánico. Especialmente en los modelos de Mecánica de la Fractura. Fui investigador visitante en el Joint Research Center que la Unión Europea tiene en Ispra (Italia), y también en el International Center for Theoretical Physics, en Trieste (Italia), trabajando en aspectos teóricos y prácticos de la fractura de materiales. Y realicé mi tesis en el material arquetípico de la ingeniería civil: el hormigón. Sé que muchos consideran al hormigón un material de segunda categoría, pero no es así. La calidad científica de un material reside, más que en el material en sí mismo, en la inteligencia que ponemos para estudiarlo. Y en el hormigón, Manuel Elices y su grupo han puesto mucha. Muchísima, diría. Las contribuciones hechas a la mecánica de la fractura no lineal, en particular a los modelos de fractura cohesiva, tanto desde los aspectos experimentales como desde los analíticos y numéricos, son una prueba fehaciente.

Y aún parece que entré con pie derecho... Iniciativas académicas

Para aquellos que le conozcan personalmente, no es novedad decir que Manuel Elices es una persona inquieta en todos los ámbitos, y el académico es uno muy relevante. Tras ser uno de los pioneros en España del estudio de la Mecánica de la Fractura —con la introducción de una asignatura en el plan de estudios de Ingeniería de Caminos en 1975 y la fundación del Grupo Español de Fractura (GEF) en 1984—, en 1995 afrontó el reto de crear la primera carrera universitaria oficial de Ingeniería de Materiales en España, en la UPM.

Y lo logró tras no pocos esfuerzos y disgustos, de los que soy testigo de excepción. Desde casi el primer momento le auxilié como colaborador y secretario coordinador de la titulación. Más tarde, en 2009, siguiendo el proceso de Bolonia se implementó en la UPM el grado en Ingeniería de Materiales, y en 2013 nacía el máster de Ingeniería de Materiales.

En la actualidad, más de 400 alumnos cursan en la UPM estudios de Ingeniería de Materiales, y los datos van mejorando año tras año. Son los frutos del esfuerzo conjunto de muchos profesores de diferentes escuelas técnicas (aeronáuticos, caminos, industriales, minas, navales, telecomunicaciones, etcétera) que de un modo generoso y altruista ponen su capacidad y vocación al servicio de la formación de nuestros estudiantes. Y desde hace unos años me toca vivirlo en primera línea, tras el paso atrás de Manuel Elices en 2008 provocado por su jubilación.

En cuanto a mi trayectoria profesional universitaria, he de decir que en 1991 obtuve plaza de profesor titular y me hice cargo de la docencia en Mecánica de Fractura, que he conservado hasta la actualidad. También me responsabilicé de la transformación en 2002 del GEF en asociación científica bajo la denominación de Sociedad Española de Integridad Estructural, siendo su primer presidente desde 2002 a 2011.

Mi experiencia académica me reafirma en la idea de que investigación y docencia universitaria van estrechamente unidas, y que realmente esta última constituye el motor de la primera. Pues no solo es en la fase de los estudios universitarios donde casi siempre se forjan las vocaciones investigadoras —véase mi ejemplo— , sino que además el contacto con la docencia hace al investigador más riguroso y ordenado, más crítico, más despierto y abierto a la innovación y al intercambio de ideas. Por otra parte, creo que resulta superfluo enumerar los beneficios que supone para la formación de los alumnos estar en contacto con investigadores en activo.

Docencia e investigación son un binomio en el que la docencia tiene la superioridad propia de todas aquellas actividades donde el trato humano es lo prioritario; en ellas está siempre especialmente presente la posibilidad de hacernos mejores personas. Debemos tomarla muy en serio.

Pues fin con este verso le voy dando... Los materiales biológicos

A finales de los años noventa, Manuel Elices inició el estudio de los materiales biológicos estructurales (aquellos cuya función principal es resistente) bajo la perspectiva de la ciencia de materiales: buscando las relaciones que vinculan la composición, la estructura y el comportamiento mecánico. Y como epítome eligió la seda de araña, aún hoy en día inigualada en sus propiedades mecánicas.

Yo me incorporé al grupo investigador casi desde el principio, tras acceder en 2001 a una cátedra en Ciencia de Materiales. El trabajo en seda, junto a mis compañeros José Pérez Rigueiro y Gustavo Plaza Baonza, ha sido intenso desde entonces, y puedo decir con satisfacción que nuestro grupo figura —por derecho propio— en un selecto y reducido club mundial gracias a contribuciones relevantes sobre la microestructura y control de las propiedades de estos materiales.

El interés por los materiales biológicos no se circunscribió a las sedas. También las conchas de los moluscos y su asombrosa estructura han sido objeto de nuestro estudio y, más recientemente, los tejidos de colágeno, constituyentes esenciales de ligamentos y tendones, y de muchas otras estructuras resistentes del organismo. Con mis compañeros José Miguel Atienza y Francisco Javier Rojo hemos realizado estudios sobre la resistencia y comportamiento biomecánico de los vasos sanguíneos humanos y de los tejidos utilizados para la fabricación de prótesis valvulares cardiacas.

Ya estoy en el segundo, y aún sospecho... El Centro de Tecnología Biomédica y el impulso de la Fundación Botín

El anterior rector de la UPM, el profesor Javier Uceda, creó en 2008 el Centro de Tecnología Biomédica (CTB) con el fin de dar un impulso definitivo a la investigación biomédica en nuestra universidad, que no disponía de ningún centro específico en dicha área. El edificio del CTB abría sus puertas el Campus de Montegancedo, en Pozuelo de Alarcón (Madrid), en la primavera de 2011, tras el ímprobo trabajo —que nunca sabremos agradecer bien— de su actual director y alma máter, el profesor Francisco del Pozo Guerrero. El centro, marcadamente interdisciplinar, incorporaba investigadores de dentro y fuera de la UPM, y nuestro grupo, dedicado a los materiales y biomateriales biológicos, ocupaba uno de los laboratorios de la planta baja.

Los objetivos marcados para nuestro grupo investigador se agruparon en torno a tres líneas de investigación bien definidas: el estudio y desarrollo de fibras y biomateriales basados en las proteínas de las fibras de seda, el estudio del comportamiento mecánico de tejidos de colágeno y su aplicación a bioprótesis y el estudio de la interacción mecánica de células y tejidos.

En todos ellos, sobre todo en el primero, el grupo tenía experiencia y había desarrollado las técnicas básicas de caracterización. Aun así eran muchas las carencias, sobre todo de personal, que hacían necesario buscar una fuente de financiación estable con la que abordar los retos de la investigación en el centro recién estrenado.

No recuerdo con exactitud la fecha de la visita —en el otoño de 2009, creo— en la que don Pedro García Barreno me invitó a participar en el Programa de Ciencia de la Fundación Botín. Lo que sí recuerdo fue la perplejidad que me causó «una propuesta tan generosa y aparentemente sin sentido». Y digo esto, porque como buen investigador hispano, yo estaba curtido en la redacción y justificación —cada vez más procelosa— de peticiones de proyectos y ayudas, y me parecía cosa de fábula que alguien pudiera ofrecer soporte económico a medio plazo con tanta facilidad. Pero don Pedro no es un etéreo príncipe azul —aunque no es mal parecido para su edad, permítaseme la broma—, y mucho menos un hada madrina, y tras la primera vacilación no pude sino reconocer que el ofrecimiento era tan real como generoso. Al paso ya de cuatro años confirmo la primera impresión: la asistencia prestada por la Fundación Botín ha sido generosa en todos los términos, materiales y humanos. Su ayuda ha permitido arrancar con buen pie y dar estabilidad al Laboratorio de Materiales Biológicos y Biomateriales del CTB, soportando durante este tiempo buena parte de nuestros gastos de personal investigador.

Es difícil cuantificar la im/prescindibilidad de la ayuda recibida y el porcentaje en que ha hecho posible el avance de la investigación en mi grupo. Si digo todo o digo nada seguro que me equivoco, y también si doy cualquier cifra intermedia. Pues el patrocinio de la Fundación Botín, más que contribuir en una cuota parte —difícil o no de cuantificar— de nuestra tarea científica, ha propiciado un cambio de paradigma en nuestro grupo, abusando del término acuñado por Kuhn.[2]

De este modo, y en nuestro caso, además de aportar recursos para el recorrido de nuestra ruta científica, la Fundación ha propiciado una forma diferente de «ver» y de «hacer» ciencia y tecnología, fomentando la exploración de caminos más creativos, de mayor conexión con la aplicación tecnológica y la difusión y el compromiso social.

Por todo ello guardo y guardaré un profundo reconocimiento a la Fundación Botín, a su presidente don Emilio Botín (q.e.p.d.), a sus directores (Rafael Benjumea primero e Íñigo Sáenz de Miera ahora) y en especial a Pedro García Barreno y Francisco Moreno, las cabezas pensantes y más visibles del Programa de Ciencia. También a todas las personas que en puestos —solo aparentemente— de menor importancia han colaborado muy estrechamente con nuestro trabajo en estos años. Mi agradecimiento pues a Pablo Cironi, Michael Tadros y Lala Aguadé, por su apoyo, disponibilidad y cercanía.

Que estoy los trece versos acabando... Los retos pendientes

¿Qué he conseguido? ¿Qué quiero conseguir? Estas son dos preguntas de difícil respuesta que sin embargo es imprescindible hacerse. Pasada cierta edad, uno tiene que reconocer que pocos logros en la vida son exclusivamente personales, y menos que ninguno los científicos. Somos capaces de ver más lejos porque estamos subidos a hombros de gigantes —parafraseando a Newton—. Pero en todo caso, es necesario contabilizar lo recorrido y hacer una opción personal por el futuro.

Y vuelvo la mirada a las autoridades, en el buen sentido —¿hay otro?—. Eso nunca me ha fallado. Y tampoco parece desatinado cuando grandes centros y consorcios de investigación se rodean de un grupo de sabios que periódicamente evalúa la primera de las preguntas y sugiere caminos para recorrer la segunda. Yo, más modestamente, hago lo mismo con las personas que me merecen mayor respeto. Y no se trata de un seguimiento acrítico, sin reflexión. Los párrafos a continuación han sido, en buena medida, destilados de conversaciones con personas que considero de completa solvencia científica y personal.

Echando la vista atrás, contemplo con cierta satisfacción lo realizado en el ámbito académico. Quizá porque, como ya he dicho anteriormente, el trabajo directo con las personas y la contribución a su formación son el camino más directo hacia la mejora personal y colectiva. En este ámbito, la puesta en marcha de las titulaciones de Ingeniería de Materiales junto a Manuel Elices ha sido sobresaliente. Pero también las clases impartidas, y las horas de tutoría y el acompañamiento de tantos alumnos que han querido contar conmigo. También me causan satisfacción las aportaciones en el campo de la mecánica de fractura no lineal, en concreto sobre el modelo de fisura cohesiva, tan útil para el estudio de la rotura en materiales aparentemente tan diferentes como el hormigón o el polimetilmetacrilato. El trabajo realizado con Manuel Elices y Jaime Planas en los noventa creo que ha sentado las bases del modelo de zona cohesiva y ha abierto nuevas vías para su implementación numérica y para la medida de los parámetros materiales.[3-8]

El grueso del trabajo científico realizado se encuentra, claro está, en los materiales biológicos. Y las aportaciones en el campo de las sedas son objetivamente —creo— también

sobresalientes. De entre ellas, destaco las relacionadas con la capacidad de recuperación y control de las propiedades del hilo estructural de las arañas tejedoras (la llamada seda MA) y de su hilo flageliforme (hilo espiral de captura).[9-12] También la demostración de que la capacidad de recuperación tras una deformación excesiva –atribuida solo al hilo de las arañas– puede trasladarse mediante el oportuno procesado a fibras compuestas por otras proteínas, como las que se obtienen de los gusanos de seda.[13] Estos descubrimientos creo que tendrán gran repercusión en la –no tan– futura producción de fibras biomiméticas.

El conocimiento de la microestructura de las sedas, muy desarrollado mediante microscopia de fuerzas atómicas también merece ser destacado.[14-16] Así como los trabajos mediante microscopia Raman con el doctor Fernando Agulló en el Instituto de Ciencia de Materiales de Madrid y microdifracción de rayos X en colaboración con el doctor Christian Riekel del ESRF de Grenoble, Francia.[17-19] Y junto al doctor Todd Blackledge de la Universidad de Akron, en Ohio (Estados Unidos), y la doctora Cheryl Hayashi de la Universidad de California, en Riverside (Estados Unidos), hemos seguido el rastro filogenético de las buenas propiedades de las sedas de araña.[20-22]

Quizá más modestos para la ciencia básica, aunque importantes en ciencia y tecnología aplicada, han sido los resultados en otras áreas. Las propiedades de los vasos arteriales desempeñan un papel determinante en el desarrollo de las patologías y sus terapias.[23-26] Y aún no se conoce un procedimiento seguro de selección de membranas de colágeno que permita garantizar la durabilidad de los velos de bioprótesis valvulares. En ambos campos hemos aportado nuestro granito de arena poniendo a punto nuevos métodos de ensayo y procedimientos de caracterización y selección.[27-29]

Mucho queda por hacer, pienso que lo más interesante. Hace ya algún tiempo que hemos iniciado la producción de fibras biomiméticas, con el fin de aprovechar el conocimiento atesorado sobre los hilos de seda. Si bien la composición de los hilos es importante, creemos firmemente que un procesado adecuado es la clave de su éxito. Los pobres resultados obtenidos en todo el mundo —por nuestro grupo también— con proteínas artificiales procedentes de la ingeniería genética y la biotecnología lo demuestran sin lugar a dudas: los procedimientos de hilado actualmente en uso no permiten la sutil manipulación de la microestructura que el hilo requiere. Por eso, hemos desarrollado, en colaboración con el profesor Alfonso Gañán de la Universidad de Sevilla, un nuevo método ahora en su fase de redacción de la patente. Los resultados preliminares son altamente esperanzadores, en cantidad y calidad de los hilos, y espero que en breve podamos ofrecer el nuevo proceso a la comunidad científica.

Algo similar ocurre con la utilización de proteínas de seda como andamios para ingeniería de tejidos. Una vez demostradas sus cualidades regenerativas, estamos desarrollando las bases para su uso como encapsulado molecular y celular, para evitar su desaparición prematura y controlar mejor la emisión de factores químicos al entorno. Las mallas de nano/microfibras, pero también otros formatos como las películas delgadas y los geles son de gran utilidad. Y los primeros resultados en ratones acompañan: las células madre de la médula ósea sobreviven encapsuladas tras ser depositadas en un área cerebral infartada. Estos trabajos preliminares, en colaboración con el grupo del doctor Daniel González Nieto, del CTB, verán pronto la luz.

Por último, he de decir que estoy muy ilusionado –quizá con lo que más– con la consolidación y el desarrollo de la línea de trabajo dedicada al estudio de la mecánica celular y la respuesta biológica a los estímulos mecánicos, tanto de manera aislada (a nivel celular) como en su conjunto (a nivel tisular).

En esta área hemos iniciado el estudio del proceso de envejecimiento en ratones observando los cambios que provoca en los linfocitos T, muy sensibles a la edad de su portador. Para este trabajo contamos con la colaboración de la profesora Mónica de la Fuente de la Universidad Complutense de Madrid, experta en el estudio del envejecimiento. De nuevo, los primeros resultados –en vías de publicación– han mostrado que la microscopia de fuerza atómica es una poderosa herramienta para la evaluación mecánica celular, capaz de registrar el cambio de rigidez producido en los linfocitos.

El uso simultáneo y complementario de otro tipo de técnicas más tradicionales (como la microaspiración y la tracción de células embebidas en un gel soporte) permitirá contrastar y calibrar las medidas más directas de microscopia de fuerzas. Todas estas técnicas están implementadas en nuestro laboratorio, y en la actualidad estamos desarrollando ensayos sobre células de la piel y miocardiocitos.

Contad si son catorce y está hecho. A modo de conclusión

Si algo puedo aportar al mundo de la biología y la medicina es mi formación en Mecánica y Ciencia de Materiales, y mi visión de ingeniero, muy sesgada hacia el discernimiento y la resolución de problemas aplicados. Siento orgullo de seguir en alguna medida la estela marcada por otros ingenieros de Caminos que no se avinieron al apacible desarrollo de la profesión de ingeniero civil y que exploraron campos tan alejados como la telemática (Torres Quevedo), la aeronáutica (La Cierva) o incluso la literatura (como el premio Nobel José Echegaray). Si bien mis méritos y capacidad no resisten la comparación con ninguno de ellos, sí me anima —creo— el mismo espíritu inquieto y emprendedor.

De la mano de mi maestro y amigo Manuel Elices, me he acercado con humildad y asombro a la frontera del mundo biológico, muy alejado de la ingeniería hasta hace muy poco. Los sistemas biológicos (a todos los niveles, desde el biomolecular al orgánico) son sin ninguna duda el gran reto del siglo que vivimos. Desde este lado de la divisoria confío en que mi trabajo y conocimientos sean en alguna medida —no importa si poco apreciables— valiosos para el desarrollo humano.

Un último apunte. Puede que a los pocos que hasta aquí lleguen les sorprenda la influencia que he dado en mi vida al principio de autoridad. Confiar es tan imprescindible para vivir como respirar. El individualismo y el relativismo han disuelto el armazón de nuestra sociedad y ya estamos pagando las consecuencias. Yo sé de quién me he fiado y eso me sosiega y da paz en los momentos difíciles. Espero que ustedes hayan encontrado —o encuentren— también alguien de quien fiarse.

12 de octubre de 2014, Nuestra Señora del Pilar, Fiesta Nacional de España

Bibliografía

1. M. Alonso y E. J. Finn, *Física*, 3 vols., Ciudad de México, Fondo Educativo Interamericano, 1970.

2. T. S. Kuhn, *La estructura de las revoluciones científicas*, Madrid, Fondo de Cultura Económica de España, 2005.

3. J. Planas, M. Elices, G. V. Guinea, J. Gómez, D. A. Cendón y I. Arbilla, «Generalizations and specializations of cohesive crack models», en *Eng Fract Mech*, vol. 70, 2003, pp. 1759-1776.

4. J. Planas, G. V. Guinea y M. Elices, «Size Effect and Inverse Analysis in Concrete Fracture», en *Int J Fract*, vol. 95, 1999, pp. 367-378.

5. J. Planas, G. V. Guinea y M. Elices, «Generalized size effect equation for quasi brittle materials», en Fract *Engng Mater Struct*, vol. 20, 1997, pp. 671-687.

6. J. Planas, M. Elices y G. V. Guinea, «Cohesive cracks versus nonlocal models: closing the gap», en *Int J Fract*, vol. 63, 1993, pp. 173-178.

7. M. Elices, J. Gómez, G. V. Guinea y J. Planas, «The cohesive zone model: advantages, limitations and challenges», en *Eng Fract Mech*, vol. 69, 2002, pp. 137-163.

8. G. V. Guinea, J. Planas y M. Elices, «A general bilinear fitting for the softening curve of concrete», en *Mater Struct*, vol. 27, 1994, pp. 99-105.

9. G. V. Guinea, M. Elices, J. Pérez-Rigueiro y G. R. Plaza, «Stretching of supercontracted fibers: a link between spinning and the variability of spider silk», en *J Exp Biol*, vol. 208, 2005, pp. 25-30.

10. G. V. Guinea, M. Elices, J. I. Real, S. Gutiérrez y J. Pérez-Rigueiro, «Reproducibility of the tensile properties of spider (argiope trifasciata) silk obtained by forced silking», en *J Exp Zool*, vol. 303A, 2005, pp. 37-44.

11. J. Pérez-Rigueiro, M. Elices, G. R. Plaza, J. I. Real y G. V. Guinea, «The effect of the spinning forces on of spider silk properties», en *J Exp Biol*, vol. 208, 2005, pp. 2633-2639.

12. J. Pérez-Rigueiro, M. Elices y G. V. Guinea, «Controlled supercontraction tailors the tensile behaviour of spider silk», en *Polymer*, vol. 44, 2003, pp. 3733-3736.

13. G. R. Plaza, P. Corsini, E. Marsano, J. Pérez-Rigueiro, L. Biancotto, M. Elices, C. Riekel, F. Agulló-Rueda, E. Gallardo, J. M. Calleja y G. V. Guinea, «Old silks endowed with new properties», en *Macromolecules*, vol. 42, 2009, pp. 8977-8982.

14. J. Pérez-Rigueiro, L. Biancotto, P. Corsini, E. Marsano, M. Elices, G. R. Plaza y G. V. Guinea, «Supramolecular organization of regenerated silkworm silk fibers», en *Int J Biol Macromol*, vol. 44, 2009, pp. 195-202.

15. J. Pérez-Rigueiro, M. Elices, G. R. Plaza y G. V. Guinea, «Similarities and differences in the supramolecular organization of silkworm and spider silk», en *Macromolecules*, vol. 40, 2007, pp. 5360-5365.

16. G. R. Plaza, G. V. Guinea, J. Pérez-Rigueiro y M. Elices, «Thermo-hygro-mechanical Behaviour of Spider Dragline Silk: Glassy and Rubbery States», en *J Polym Sci B Polym Phys*, vol. 44, 2006, pp. 994-999.

17. G. B. Perea, C. Riekel, G. V. Guinea, R. Madurga, R. Daza, M. Burghammer, C. Hayashi, M. Elices, G. R. Plaza y J. Pérez-Rigueiro, «Identification and dynamics of polyglycine II nanocrystals in Argiope trifasciata flagelliform silk», en *Sci Rep*, vol. 3, n.º 3061, 2013, DOI: 101038/srep03061

18. G. R. Plaza, J. Pérez-Rigueiro, C. Riekel, B. Perea, F. Agulló-Rueda, M. Burghammer, G. V. Guinea y M. Elices, «Relationship between microstructure and mechanical properties in spider silk fibers: identification of two regimes in the microstructural changes», en *Soft Matter*, vol. 8, 2012, pp. 6015-6026.

19. M. Elices, G. V. Guinea, G. R. Plaza, C. Karatzas, C. Riekel, F. Agulló-Rueda, R. Daza y J. Pérez-Rigueiro, «Bioinspired fibers follow the track of natural spider silk», en *Macromolecules*, vol. 44, 2011, pp. 1166-1176.

20. T. A. Blackledge, J. Pérez-Rigueiro, G. R. Plaza, B. Perea, A. Navarro, G. V. Guinea y M. Elices, «Sequential origin in the high performance properties of spider dragline silk», en *Sci Rep*, vol. 2, n.º 782, 2012, DOI: 101038

21. J. Pérez-Rigueiro, G. R. Plaza, F. G. Torres, A. Hijar, C. Hayashi, B. Perea, M. Elices y G. V. Guinea, «Supercontraction of dragline silk spun by lynx spiders (Oxyopidae)», en *Int J Biol Macromol*, vol. 46, 2010, pp. 555-557.

22. M. Elices, G. R. Plaza, M. Arnedo, J. Pérez-Rigueiro, F. Torres y G. V. Guinea, «The Mechanical Behaviour of Silk during the Evolution of Orb-web Spinning Spiders», en *Biomacromolecules*, vol. 10, 2009, pp. 1904-1910.

23. G. V. Guinea, J. M. Atienza, F. J. Rojo, C. M. García-Herrera, L. Yiqun, L. Claes, J. M. Goicolea, C. García-Montero, R. L. Burgos, F. J. Goicolea y M. Elices, «Factors influencing the mechanical behaviour of healthy human descending thoracic aorta», en *Physiol Meas*, vol. 31, 2010, pp. 1553-1565.

24. G. V. Guinea, J. M. Atienza, P. Fantidis, F. J. Rojo, A. Ortega, M. Torres, P. González, M. L. Elices, K. Hayashi y M. Elices, «Effect of atherosclerosis on thermo-mechanical properties of arterial wall and its repercussion on plaque instability», en *Int J Cardiol*, vol. 132, 2008, pp. 444-446.

25. G. V. Guinea, J. M. Atienza, M. Elices, P. Aragoncillo y K. Hayashi, «Thermomechanical behaviour of human carotid arteries in the passive state», en *AJP-Heart Circ Physiol*, vol. 288, 2005, pp. 2940-2945.

26. D. Bia, J. M. Atienza, F. Salvucchi, Y. Zócalo, F. J. Rojo, C. García-Herrera, E. Claes, H. Pérez, D. Craiem, S. Lluberas, D. Fernández, S. Laza, G. V. Guinea y R. L. Armentano, «Preservation of muscular and elastic artery distensibility after an intercontinental cryoconserved exchange: theoretical advances in arterial homograft generation and utilization», en *Artif Organs*, vol. 33, 2009, pp. 662-669.

27. B. Mendoza-Novelo, D. I. Alvarado-Castro, J. L. Mata-Mata, J. V. Cauich-Rodríguez, A. Vega-González, E. Jorge-Herrero, F. J. Rojo y G. V. Guinea, «Stability and mechanical evaluation of bovine pericardium cross-linked with polyurethane prepolymer in aqueous médium», en *Mater Sci Eng C*, vol. 33, 2013, pp. 2392-2398.

28. B. Mendoza-Novelo, E. E. Muro, E. Jorge-Herrero, F. J. Rojo, G. V. Guinea, J. L. Mata-Mata y J. V. Cauich-Rodríguez, «Decellularization of pericardial tissue and their impact on the viscoelasticity and glycosaminoglycans content», en *Acta Biomater*, vol. 7, 2011, pp. 1241-1248.

29. F. J. Rojo, J. M. García Páez, E. Jorge-Herrero, J. M. Atienza, I. Millán, A. Rocha, A. Hoyos y G. V. Guinea, «Optimal selection of biological tissue using the energy dissipated in the first loading cycle», en *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, vol. 95B, 2010, pp. 414-420.

EDUARD BATLLE

EXPLORANDO LA FRONTERA ENTRE LAS CÉLULAS MADRE Y EL CÁNCER

25

La investigación que he llevado a cabo a largo de mi carrera científica ha intentado esclarecer la relación que existe entre las células madre y el cáncer. Todos los tejidos de nuestro cuerpo, y particularmente la piel, el sistema sanguíneo y el aparato digestivo, se encuentran sometidos a un desgaste continuo debido a su propio funcionamiento (transporte de oxígeno, absorción de los nutrientes, etcétera) y también a diversas agresiones externas (los rayos ultravioleta, la ingesta de ciertos alimentos, las infecciones, etcétera). Para evitar la destrucción y el envejecimiento prematuro que conlleva este desgaste, los tejidos reemplazan de forma continuada las células dañadas o envejecidas por células nuevas. Este mecanismo que permite a nuestros órganos preservar su función a lo largo de los años es posible gracias a un reducido grupo de células que han adquirido dos propiedades extraordinarias: la de vivir de forma indefinida y la capacidad ilimitada de regenerar el tejido. Este grupo de células son las células madre, y están presentes en todos los tejidos de nuestro organismo. No existe campo en la biomedicina actual que ofrezca más promesas y esperanzas de mejorar nuestra vida que la investigación en células madre. De hecho, las células madre se utilizan en medicina para sanar nuestro organismo desde hace muchos años; la existencia de estas células son la razón por la cual los injertos de piel en enfermos con quemaduras o los trasplantes de médula ósea en pacientes de leucemia son terapias efectivas para regenerar estos tejidos. En el futuro esperamos poder realizar intervenciones similares para regenerar otros órganos como el páncreas, el hígado o los riñones.

Mi equipo investiga para entender cómo funcionan las células madre de la pared del intestino, que es el órgano con la tasa de renovación celular más elevada de nuestro organismo: más de 1.000 millones de células de la pared del intestino (el equivalente a 5 gramos) son regeneradas por las células madre intestinales cada día. En particular, nuestra investigación ha estado dirigida a elucidar cómo alteraciones en la homeostasis de las células madre intestinales pueden originar el cáncer colorrectal, una de las neoplasias más prevalentes en nuestra sociedad. En las páginas siguientes, el lector encontrará un resumen histórico sobre el camino que he recorrido desde mis inicios como estudiante universitario hasta llegar a este campo de investigación. Solamente mirando veinte años hacia atrás, los avances científicos y tecnológicos en el área del cáncer y las células madre han experimentado verdaderos pasos de gigante. Me genera un cierto orgullo y también nostalgia recordar aquí mi participación en el desarrollo de nuevos conceptos que hoy en día están plenamente aceptados por la comunidad científica y que en algunos casos originaron nuevos campos de investigación en los que hoy trabajan centenares de laboratorios.

Formación académica

Nací en 1970, en el seno de una familia trabajadora del barrio de Santa Eulalia, en L'Hospitalet de Llobregat, junto a Barcelona. Mis padres tenían dos pastelerías en el barrio y entre los dos sacaban adelante el negocio familiar. Mi hermana y yo pasábamos muchas horas en la pastelería. En ocasiones, cuando la tarea científica pasa por épocas especialmente arduas y exigentes, me acuerdo del trabajo sacrificado de mis padres en la pastelería y les agradezco enormemente que nunca nos impusieran seguir con la tradición familiar, sino más bien todo lo contrario, animarnos a seguir por otros derroteros. Mi padre nos repetía dos máximas: «No os dediquéis al negocio familiar» y «Hagáis lo que hagáis, intentad ser siempre los mejores». Dado que mis padres trabajaban de cara al público, los fines de semana también pasaba muchas horas en mi casa solo, lo que de alguna manera debió de agudizar mi espíritu creativo. Recuerdo de niño experimentar con cafeteras, introduciendo en el depósito del café todo tipo de materiales para ver qué sucedía en cada caso, y más tarde trastear con los primeros ordenadores personales, que aprendí a programar de forma autodidacta los fines de semana mientras mis padres atendían la pastelería. Quizá, las primeras influencias que marcaron mi futuro como científico fueron las clases de Biología y de Física y Química que impartían dos profesores de bachillerato extraordinarios en la Escuela PROA. Aunque inicialmente me fascinó sobre todo la física, el hecho de que las matemáticas nunca fueran mi fuerte decantó mi interés posterior hacia la biología.

Estudié Biología en la Universidad de Barcelona, en la que obtuve muy buenas calificaciones que ayudaron a costear mis estudios universitarios. En el tercer curso, mi inquietud natural por la investigación, junto con la competitividad existente para poder conseguir plazas para hacer el doctorado una vez acabada la carrera, me motivaron a trabajar como estudiante en prácticas en mi tiempo libre, por supuesto sin cobrar nada. El doctor Rafael Romero me acogió cuando solicité trabajo en el Departamento de Genética. Su grupo, conjuntamente con el de Jaume Bagunyà, catedrático del departamento, estudiaba procesos regenerativos en la planaria, *Dugesia (Girardia) tigrina*, un pequeño gusano plano con una capacidad de regeneración extraordinaria. En aquellos días, me fascinaban aspectos relacionados con la biología del desarrollo. Buscábamos factores que permitieran a una planaria seccionada trasversalmente a la altura de la faringe regenerar la complejidad de este órgano. Tanto si era el fragmento anterior como si era el posterior, la planaria tenía la portentosa capacidad de regenerar el organismo completo gracias a un grupo de células madre multipotentes, los neoblastos. Este proceso implicaba el restablecimiento de información posicional en el individuo adulto que permitía la correcta regeneración de los órganos independientemente del lugar de corte. Mis contribuciones como estudiante de prácticas consistieron en la caracterización de anticuerpos monoclonales desarrollados en el laboratorio que marcaban poblaciones celulares distintas durante la regeneración. Aquella época me sirvió sobre todo para darme cuenta de que el trabajo del laboratorio era apasionante y se me daba bien. Además, la relación con los doctores Rafael Romero y Jaume Bagunyà supuso una influencia muy positiva durante los años finales de carrera universitaria. El campo de investigación que siempre me ha interesado se encuentra en la frontera entre la biología de desarrollo y el cáncer, y no me cabe duda

de que refleja las influencias recibidas durante este periodo de mi formación. Parece una curiosa coincidencia, un guiño a mi trayectoria, que años después algunas de mis contribuciones más relevantes hayan sido precisamente al campo de las células madre.

Estudios de doctorado

Mi primo Estanislao Navarro, un extraordinario biólogo molecular y la única persona de mi familia cercana que había estudiado en la universidad antes que yo, trabajaba por aquel entonces en el Instituto Municipal de Investigaciones Médicas (IMIM) de Barcelona. En una cena de Navidad me contó que en el IMIM solicitaban estudiantes de doctorado. Aunque las planarias eran interesantes, realizar mi tesis estudiando el cáncer me pareció todavía más fascinante. Corría el año 1992 y todavía me faltaban dos años para acabar la carrera de Biología, pero fui a entrevistarme con el doctor Francisco X. Real, jefe del Departamento de Inmunología. Empecé a trabajar en el IMIM bajo la supervisión de la doctora Myriam Fabre y posteriormente bajo la batuta del doctor Antonio García de Herreros, a la postre mi director de tesis y ahora mentor y amigo personal. Fue cuando tuve mi primer contacto con el estudio del cáncer, y en concreto del cáncer colorrectal, el campo de investigación al que he dedicado mi carrera científica. En una primera etapa exploré los mecanismos implicados en la destrucción de las uniones existentes entre las células tumorales epiteliales, un fenómeno asociado a la adquisición de movilidad durante la invasión y la metástasis. Los tumores colorrectales progresan a través de la acumulación sucesiva de alteraciones genéticas en un número limitado de oncogenes y supresores tumorales. Aunque estas alteraciones genéticas son el motor que dirige la malignización del tumor, se había postulado que otros factores epigenéticos podrían influenciar esta progresión. En el caso del cáncer colorrectal se había razonado que los ácidos biliares y ácidos grasos de la dieta podrían actuar como promotores tumorales por activación directa de la proteína quinasa C (PKC). Nosotros demostramos que la activación de la isoenzima alfa de la PKC en células de cáncer colorrectal que presentaban un fenotipo bien diferenciado exacerbaba su comportamiento maligno, promoviendo la capacidad de migrar e invadir los tejidos adyacentes. Los datos fueron publicados en *The Journal of Biological Chemistry*.[1]

Siguiendo el hilo de la investigación anterior, realizamos un hallazgo de suma importancia para la biología del cáncer. La mayoría de los tumores epiteliales desarrollan mecanismos para incrementar su capacidad de migración y diseminación. Como parte central de este proceso, muchos tipos de tumores silencian la proteína de adhesión celular E-cadherina durante la adquisición de malignidad. A pesar de que este fenómeno se estaba investigado intensivamente en muchos laboratorios, el del doctor Walter Birchmaier en Berlín (Alemania), entre otros, el mecanismo responsable del silenciamiento de la E-cadherina se desconocía. En el trabajo anterior habíamos descrito que células con elevados niveles de actividad PKC-alfa mostraban una pobre adhesión célula a célula debido precisamente a una reducción de los niveles de E-cadherina. El análisis mecanístico de este fenómeno nos llevó a la identificación de Snail, un represor transcripcional que bloquea la expresión de E-cadherina en células tumorales de origen epitelial.[2] Este fenómeno ocurre también, de manera fisiológica, durante el desarrollo embrionario para transformar tejidos epiteliales, como el ectodermo, en tejidos mesenquimales como el mesodermo. Se conoce como

transición epitelio-mesénquima. La identificación del factor de transcripción Snail es una aportación fundamental a la biología del cáncer y ha sido esencial para entender esta etapa clave de la progresión de muchos tipos de tumores. Nuestro trabajo, junto con un segundo artículo con idénticas conclusiones llevado a cabo por los equipos de Ángela Nieto y Amparo Cano,[3] que se publicaron conjuntamente en *Nature Cell Biology*, fundaron un nuevo campo de investigación: el de la transición epitelio-mesénquima en cáncer. Desde entonces, nuestros hallazgos han representado el marco conceptual para la investigación de centenares de laboratorios en todo el mundo. El papel fundamental del gen Snail en la malignización de los tumores se ha demostrado para muchos tipos de cáncer, incluyendo los de mama, colon y piel. Sin duda, Snail fue uno de los descubrimientos más importantes de mi carrera, pero no fue el único de este periodo. También durante mi tesis doctoral conocí a Elena Sancho, que se convertiría en socia profesional y compañera en la vida, y con quien he compartido todas las contribuciones de mi carrera científica, incluida la de Snail.

Periodo posdoctoral

Con la mente fijada en mi futura formación posdoctoral, asistí en 1999 a un congreso en Viena donde escuché por primera vez al profesor Hans Clevers dar una conferencia. La investigación en cáncer colorrectal vivía por aquel entonces tiempos apasionantes. En 1997, la publicación de tres artículos consecutivos en la revista *Science*, dos provenientes de los laboratorios del mismo Clevers, junto con Kinzler y Vogelstein, y un tercero del laboratorio de Paul Polakis, describían una pieza fundamental para entender el inicio de la tumorigénesis colorrectal.[4-6] Prácticamente todos los tumores colorrectales presentan mutaciones activadoras en componentes de la vía de señalización por WNT, principalmente en el gen supresor de tumores APC o en el oncogén beta-catenina. Estas alteraciones genéticas son las únicas presentes en lesiones tempranas premalignas del intestino, por lo que representan el primer evento transformador en el cáncer colorrectal. Sin embargo, el mecanismo por el que las alteraciones en APC o beta-catenina originaban el cáncer colorrectal era desconocido, y pensábamos de forma acertada que este mecanismo representaba la piedra filosofal que permitiría entender el inicio de la tumorigénesis en el intestino. Estos tres artículos describían por primera vez la interacción de la proteína beta-catenina con el factor de transcripción TCF4 para dar lugar a un complejo activador de la transcripción que era el componente final ejecutor de la ruta de señalización por factores WNT. Los tres artículos relacionaban las alteraciones genéticas en componentes de la vía de WNT con la activación constitutiva del complejo en lesiones tempranas del cáncer colorrectal y en melanoma.

Desde su publicación me sentí atraído por este descubrimiento. Recuerdo numerosas y apasionadas discusiones acerca de estos artículos con Antonio García de Herreros y con Paco Real en los pasillos del IMIM. Estaba decidido a ponerme en contacto con Hans Clevers para tantear la posibilidad de ir a trabajar a su laboratorio, cuando se cruzó en mi camino una oportunidad difícilmente rechazable. Otro gran científico, Miguel Beato, planeaba la creación de un nuevo instituto en Barcelona, el embrión del futuro Centre de Regulació Genòmica (CRG), y buscaba investigadores posdoctorales que, tras una estancia en su laboratorio en Alemania, se incorporaran al nuevo centro de investigación en Barcelona. La oferta era muy atractiva, y Elena Sancho y yo aceptamos unirnos a su laboratorio

en Marburg para investigar sobre señalización por hormonas en cáncer de mama. No obstante, los acontecimientos se aceleraron y el regreso de Miguel Beato a Barcelona se precipitó hasta el punto de que hacía inviable completar una estancia posdoctoral productiva. Me pareció arriesgado acabar este periodo sin publicaciones que acreditaran mi trayectoria profesional y me permitieran desarrollar mi liderazgo como científico. Miguel Beato lo entendió perfectamente, así que recuperé la idea de escribir a Hans Clevers solicitando una entrevista de trabajo.

Hans Clevers nos citó a Elena y a mí en Utrecht a finales de enero de 2000, para impartir un seminario y entrevistarnos tanto con él como con el resto de miembros de su laboratorio. Cruzamos una Alemania nevada para llegar a su laboratorio en el Hospital Universitario de Utrecht (UMC). Los seminarios todavía se impartían con diapositivas físicas y recuerdo perfectamente la escena; yo, un estudiante de doctorado recién graduado delante de todo el laboratorio de Hans Clevers, introduciendo las diapositivas una a una en el carrusel sin que me temblara la mano, a pesar de que se trataba de mi primer seminario en inglés. Hans Clevers estaba muy impresionado con el trabajo de Snail, y a los miembros del laboratorio no les supuso ningún problema aceptarnos a los dos como futuros compañeros. Este hecho ayudó a vencer las reticencias iniciales de Hans Clevers a tener una pareja de posdoctorandos trabajando en su laboratorio. Tres semanas después de la entrevista recibimos un correo electrónico de Hans que decía: «*The decision was a hard nut to crack, but after having spoken to the people in the lab, I would be happy to have both of you in the lab*». Aquella nuez difícil de pelar cambió nuestras vidas y definitivamente la estancia en su laboratorio ha marcado el resto de mi carrera científica.

Llegamos a Utrecht un jueves de agosto y el mismo viernes empezamos a trabajar. Tras el descubrimiento del complejo beta-catenina/TCF como pieza fundamental ejecutora de la señalización por WNT en desarrollo y en cáncer, casi todos los miembros del grupo de Hans enfocaban sus proyectos hacia este aspecto. La hipótesis de trabajo era que alguno de los genes controlados por beta-catenina/TCF en el epitelio intestinal promovía la transición hacia adenomas benignos o pólipos. Marc van de Wetering, uno de los investigadores sénior del laboratorio, había generado herramientas para analizar esta hipótesis. Debido a las mutaciones que se encuentran normalmente en este tipo de tumores, las líneas celulares derivadas de pacientes presentaban actividad constitutiva del complejo beta-catenina/TCF. Van de Wetering había generado clones inducibles derivados de líneas celulares que, bajo la administración de doxiciclina, expresaban una versión dominante negativa del TCF4 que bloqueaba la actividad transcripcional del complejo. Corría el año 2000, y la transcriptómica acababa de nacer, aunque por aquel entonces esta tecnología era de uso restringido. Hans contactó con Pat Brown, del Departamento de Bioquímica de la Universidad de Stanford (Estados Unidos), uno de los laboratorios pioneros en el desarrollo de *microarrays*, y estableció una colaboración con su equipo para comparar el programa genético de las células de cáncer de colon cuando el complejo beta-catenina/TCF está activo o inactivo por la expresión dominante negativa del TCF. Un colega holandés en el laboratorio de Pat Brown, Cor Verweij, realizó el experimento y, para cuando nosotros llegamos al laboratorio de Hans, la lista de genes diana del complejo en cáncer colorrectal había sido despedazada y cada miembro del laboratorio había escogido un gen diana

favorito para perseguir su investigación posdoctoral. Ese viernes Hans estaba de viaje, así que pedimos a Van de Wetering si nos podía dejar ver la lista de genes candidatos, o lo que quedaba de ella.

El primer fin de semana en Utrecht lo pasé en el apartamento que habíamos alquilado repasando la función de cada uno de los genes que había en aquella lista hasta que algo llamó mi atención. Entre los genes activados por el complejo había dos receptores tirosina quinasa de la familia EphB, mientras que entre los genes que se inducían de manera indirecta al bloquear la señalización del complejo encontré la efrinaB1, precisamente uno de los ligandos de los receptores EphB. Profundicé en los artículos que describían la función de esta familia de receptores y ligandos durante el desarrollo embrionario y aprendí cómo su función consiste en compartimentalizar territorios celulares. La expresión del receptor en una población celular y la de su ligando en otra, como por ejemplo en los rombómeros del encéfalo, da lugar a la formación de zonas adyacentes, distinguidas por la expresión de una u otra molécula, delimitadas por una frontera física que se establece por la interacción de los receptores EphB con su ligando efrinaB1. El epitelio en el intestino grueso está organizado en invaginaciones en forma de saco que se denominan criptas de Lieberkühn, donde también se distinguen dos compartimentos. En el fondo de las criptas residen las células progenitoras en continua proliferación, mientras que la mitad superior está ocupada por células diferenciadas no proliferantes. Las células diferenciadas se renuevan continuamente a partir de los progenitores que migran hacia la superficie. Durante aquel primer fin de semana nació la hipótesis de que los receptores EphB y las efrinas podían estar implicadas en separar el compartimento proliferativo y el compartimento diferenciado. De alguna forma, este mecanismo encajaba bien con la organización de la mucosa intestinal normal. Sin embargo, habíamos identificado los receptores EphB y las efrinas en células tumorales bajo el control de la ruta de WNT y, como desgrano a continuación, esta pieza del puzle, que al principio no encajaba del todo, resultó ser determinante para conectar por primera vez la actividad de las células madre intestinales con el cáncer colorrectal.

Cuando Hans regresó el lunes al laboratorio le expliqué mis elucubraciones del fin de semana mientras le pedía por favor si me permitía comprar unos anticuerpos para estudiar la expresión de receptores y ligandos en la cripta intestinal. Hans accedió con incredulidad, y recuerdo que me dijo con algo de sorna: «Estaría bien que descubrieras algo en tu primera semana...». Pocos días después y con gran excitación visualizaba bajo el microscopio una tinción complementaria entre el receptor EphB3 y la efrinaB1. Analicé también por inmunohistoquímica muchos de los genes activados por beta-catenina/TCF y genes inducidos tras el bloqueo de la actividad del complejo en células de cáncer de colon. Sorprendentemente, observé que todos ellos seguían el mismo patrón complementario que los receptores EphB y las efrinas. Es decir, que el conjunto de genes regulados por el complejo beta-catenina/TCF en las lesiones iniciales del cáncer colorrectal también se expresaba en el compartimento de células progenitoras normales de las criptas intestinales, mientras que aquellos genes inhibidos por beta-catenina/TCF en los tumores se expresaban en células diferenciadas del intestino. Estos resultados, junto con la visualización por primera vez de beta-catenina nuclear en el fondo de las criptas, que consiguió Elena Sancho no sin dificultades técnicas,

demostraron la presencia de actividad fisiológica de la vía de señalización por WNT en el epitelio intestinal. Me di cuenta de que la actividad de WNT controlaba el interruptor proliferación/diferenciación en la base de las criptas, el lugar donde residen las células madre intestinales.

Estas observaciones representaron la base de los dos artículos publicados en la revista *Cell* como resultado de nuestra estancia en el laboratorio de Hans Clevers.[7,8] Demostramos que, en el inicio de la tumorigénesis colorrectal, la adquisición de mutaciones en componentes de la vía de WNT imponen el fenotipo de célula progenitora a las células mutantes, y las hacen independientes de las señales fisiológicas que las obligarían a diferenciarse.[8] Por aquel entonces, esta hipótesis era muy novedosa e implicaba por primera vez que las células tumorales adquieren un fenotipo de célula madre en el origen de la tumorigénesis intestinal. El segundo artículo fruto de mi estancia en el laboratorio de Hans elaboró la función de los receptores tirosina quinasa de la familia de los EphB en el epitelio intestinal. En este trabajo describimos cómo una parte fundamental del programa genético dirigido por beta-catenina/TCF regula la posición de las células intestinales a lo largo del eje de las criptas.[7] Este representa otro descubrimiento fundamental para entender la organización de los tejidos adultos y la pérdida de su arquitectura durante la carcinogénesis. Ha servido de base conceptual para la investigación en numerosos laboratorios, entre ellos los de David Wilkinson (MRC National Institute for Medical Research, Londres, Reino Unido) o Elena Pasquale (Sanford-Burnham Medical Research Institute, Estados Unidos).

Dada la relevancia de los descubrimientos expuestos, nuestros dos artículos recibieron varios comentarios en publicaciones científicas de primera línea (*Nature*, *Nature Medicine* y *Nature Reviews Cancer*), que con el tiempo se han convertido en clásicos que hasta la fecha acumulan más de dos mil citaciones. Ambos representan también ejes centrales de la investigación que he llevado a cabo posteriormente como científico independiente.

El retorno a Barcelona; ICREA y el IRB

A partir de la publicación de estos trabajos comencé a explorar la posibilidad de comenzar a dirigir mi propio grupo de investigación. Aunque ser el primer autor de los trabajos anteriormente expuestos me garantizaba buenas ofertas de trabajo en cualquier lugar del mundo, la opción de regresar a Barcelona empezó a cobrar fuerza. Para muchos esta idea suponía poco más que un suicidio científico o como mínimo estar dispuesto a pasar grandes penurias hasta poder establecer un laboratorio competitivo. Sin embargo, en aquel tiempo, la situación en Barcelona había empezado a cambiar. El consejero de Universidades e Investigación del Gobierno de la Generalitat de Catalunya, Andreu Mas-Colell, había puesto en marcha una serie de instrumentos e iniciativas para capturar talento y promover la excelencia científica. Este ambicioso plan, mantenido por los diferentes gobiernos de la Generalitat a lo largo de catorce años, ha tenido un impacto enorme, hasta el punto de que ha situado la ciencia que se realiza en Cataluña como referencia de calidad en Europa. Uno de los instrumentos claves que se creó fue la Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA), una fundación que está dirigida a la contratación de investigadores de todo el mundo que quieran trabajar en las instituciones catalanas con la única premisa

de que su investigación debe ser de frontera y excelente. El segundo instrumento fue la instauración de nuevos centros de investigación dotados de un presupuesto que los hiciera competitivos y de una organización moderna e independiente. Cuando todavía estaba trabajando en el laboratorio de Hans Clevers obtuve un contrato de profesor de la ICREA, lo que me colocaba en una posición inmejorable para negociar las condiciones de trabajo con los centros de investigación. Durante 2003 realicé varias entrevistas con Joan Guinovart y Joan Massagué en el Institut de Recerca Biomèdica (IRB) de Barcelona, con Josep Baselga en el Instituto de Oncología del Hospital Vall d'Hebron (VHIO) y en el Institut d'Investigació Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL) con Jaume Borrás y Gabriel Capellá. Recibí ofertas del IRB Barcelona y del VHIO, ambos centros excepcionales, lo que dificultaba mucho mi decisión. Finalmente acepté la proposición del IRB Barcelona tras la recomendación de Josep Baselga de hacerlo, y regresé a Barcelona a mediados de 2004. Las oportunidades y el soporte que desde 2004 me ha ofrecido el IRB han sido extraordinarios y equivalentes a las que tienen investigadores que trabajan en los centros más punteros del planeta. Nunca me he arrepentido de regresar a Barcelona, en lugar de aceptar ofertas que me han ido llegando desde el extranjero. En gran parte, estas condiciones de trabajo privilegiadas son el resultado del esfuerzo y tesón de Joan Guinovart y Joan Massagué para construir una institución que pueda competir en la élite mundial. La investigación que realiza mi laboratorio desde mi incorporación al IRB Barcelona gira alrededor de tres ejes fundamentales: por un lado, entender la relación que existe entre las células madre y el cáncer; por otro, el papel de los receptores EphB en el posicionamiento celular; y, más recientemente, hemos dedicado mucho de nuestro esfuerzo a comprender los mecanismos implicados en la metástasis, la etapa de la progresión del cáncer más mortífera. He tenido también la oportunidad y el privilegio de contribuir a la organización y el crecimiento del IRB Barcelona. Desde 2007 combino mi tarea de investigador principal con la de coordinador del Programa de Oncología.

Un nuevo mecanismo de supresión tumoral: la señalización mediada por receptores EphB controla la compartimentalización de células troncales normales y tumorales

La primera sospecha de que los receptores EphB podían actuar como supresores de la progresión del cáncer colorrectal surgió al analizar una colección de tumores del Hospital Universitario de Ámsterdam en diferentes estadios de malignidad. Acabábamos de describir en los artículos publicados en *Cell* que, como consecuencia de la activación constitutiva de la ruta de WNT en el inicio de la tumorigénesis, cada uno de los genes expresado bajo el control de beta-catenina/TCF en las células progenitoras de las criptas se expresaba en las lesiones neoplásicas iniciales (adenomas y criptas displásicas). Los receptores EphB2 y EphB3 eran un claro ejemplo de ello. Sin embargo, observamos que la expresión de los dos receptores se silenciaba alrededor de la transición adenoma-carcinoma en prácticamente todos los pacientes analizados. Este hallazgo contrastaba con el hecho de que las mutaciones activadoras de la vía de WNT se mantienen a lo largo de toda la secuencia carcinogenética, desde lesiones iniciales hasta tumores metastásicos. El nivel de silenciamiento de los genes EphB correlacionaba fuertemente con la pérdida de diferenciación del tumor, lo que sugería que había ocurrido concomitantemente con la adquisición de malignidad

e independientemente de la señalización por WNT. La pregunta en aquel momento era obvia: ¿Confería la pérdida de expresión de los receptores EphB alguna ventaja a las células de cáncer colorrectal? Nuestros experimentos genéticos en animales fueron inequívocos. Contábamos con ratones deficientes para los receptores EphB2 y EphB3 que habíamos obtenido de Tony Pawson (Samuel Lunenfeld Research Institute, Toronto, Canadá). Utilizamos estos modelos para generar una cepa de ratones mutantes para el gen APC en un fondo genético de baja actividad EphB2/B3. En condiciones normales, los ratones que solo eran mutantes para APC desarrollaron de forma espontánea lesiones neoplásicas benignas en el intestino. Pero en ausencia de actividad EphB, este proceso se aceleraba drásticamente y desembocaba en la formación de adenocarcinomas agresivos.[9] Nuestro trabajo en la revista *Nature* recogió estos resultados y demostró por primera vez el papel supresor de tumor de los receptores EphB.

La continuación de esta investigación, llevada a cabo ya plenamente desde mi laboratorio en Barcelona, evidenció el mecanismo de supresión de tumores mediado por EphB en cáncer colorrectal: los receptores EphB imponen fronteras al crecimiento de las células cancerígenas mediante un mecanismo dependiente de la adhesión mediada por E-cadherina. En nuestro trabajo en *Nature Genetics,*[10] demostramos in vivo e in vitro que la compartimentalización mediada por EphB restringe la capacidad de células tumorales de crecer dentro de los territorios efrinaB1 positivos durante el inicio de la tumorigénesis intestinal. Las células APC mutantes iniciadoras de los tumores se encuentran rodeadas por células normales que expresan ligandos efrinaB1 que confinan su crecimiento y expansión dentro de las criptas intestinales. Nuestros resultados sugerían que las células de cáncer colorrectal silencian la expresión de los receptores EphB para evitar interacciones repulsivas impuestas por el tejido efrinaB1+ que les rodea.[10] La última aportación de mi laboratorio a este campo ha sido esclarecer cómo los mecanismos de compartimentalización celular mediada por los receptores EphB implican la destrucción de las uniones adherentes a través del corte proteolítico del ectodominio de la E-cadherina por la metaloproteasa ADAM10.[11] Este último trabajo propone que la combinación de adhesión diferencial y repulsión controlan la posición de las células dentro del epitelio intestinal.

Conectando el cáncer colorrectal con las células madre del intestino

Desde que descubrí el papel de los receptores EphB en posicionamiento celular pensé que podría utilizar su expresión en la membrana para aislar la población de células madre intestinales de la cripta. Hans Clevers perseguía la misma idea pero utilizando herramientas de genética clásica y, de hecho, fue el primero en localizar las células madre en el intestino delgado de ratón mediante el marcador Lgr5.[12] Lejos de desanimarnos, aplicamos nuestra idea a muestras humanas, ya que no existían métodos para purificar células madre de colon de pacientes. No sin grandes esfuerzos por parte de varios miembros de mi laboratorio, entre Mar Iglesias, Anna Merlos Suárez y Peter Jung principalmente, conseguimos por un lado purificar células madre de colon humano y células madre de intestino delgado de ratón, y por otro desarrollar unas condiciones experimentales que permitían expandirlas en el laboratorio.[13] Esta doble tecnología supone un avance extraordinario para la investigación con

células madre adultas, puesto que abre un abanico de posibilidades para su uso en medicina regenerativa aplicada a enfermedades inflamatorias del intestino como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa. En la actualidad, y en colaboración con el Hospital Clínico en Barcelona, estamos explorando las posibilidades terapéuticas que ofrecen las células madre de colon.

El CCR está organizado de manera jerárquica con similitud al epitelio intestinal normal, y al frente de la jerarquía se identifican las células madre del cáncer

El estudio de las células madre no solo promete revolucionar la medicina regenerativa, sino también entender las causas de muchas enfermedades relacionadas con el envejecimiento. Y entre todas ellas, quizá el conocimiento del cáncer ha sido el que más ha avanzado gracias a la investigación sobre ellas. En particular, los descubrimientos en el área de las células madre han impulsado dos aspectos clave. En primer lugar, entendemos ahora que la mayoría de los cánceres surgen por la acumulación de fallos a lo largo de los años como consecuencia del envejecimiento de nuestro organismo. Se ha demostrado que los errores que causan el cáncer tienen su origen en defectos en el funcionamiento de las células madre de los tejidos adultos. En segundo lugar, el estudio de las células madre ha fomentado la noción de que, de manera similar a los tejidos sanos de nuestro cuerpo, muchos cánceres contienen una población de células madre tumorales encargada de regenerar el tumor. La regeneración del cáncer después de la terapia y las recaídas en la enfermedad son fenómenos muy frecuentes asociados a una gran mortalidad. Uno de los objetivos centrales de mi laboratorio es entender el papel de las células madre tumorales en la regeneración de los cánceres colorrectales.

Avances recientes liderados por mi laboratorio demuestran que la mayoría de tumores colorrectales están compuestos por dos poblaciones celulares con fenotipos similares al de las células madre o bien al de las células diferenciadas del epitelio intestinal normal.[14] Únicamente aquellas células tumorales que adoptan el fenotipo de célula madre presentan capacidad de autorrenovación a largo plazo y tienen la capacidad de propagar la enfermedad. La metodología desarrollada para purificar células madre normales del epitelio intestinal nos ha posibilitado aislar las células madre tumorales a partir de muestras de pacientes y descodificar su programa genético. Esta información nos ha permitido demostrar que los pacientes con tumores colorrectales que presentan una expresión elevada de genes característicos de las células madre tienen un elevado riesgo de que el tumor se reproduzca tras la cirugía curativa.[14] Globalmente, estos datos identifican a las células madre del cáncer colorrectal como el origen de las recaídas en la enfermedad tras la terapia.

Desde que realizamos este descubrimiento, una gran parte de nuestra investigación se centra en responder dos preguntas: ¿qué genes controlan la expansión de las células madre tumorales? y ¿cómo estos pueden contribuir a la susceptibilidad a desarrollar cáncer? Esta investigación nos ha llevado a identificar recientemente un circuito transcripcional dirigido por el factor GATA6 que regula la autorrenovación de las células troncales en los

adenomas o pólipos intestinales.[15] Estas lesiones son benignas pero representan un serio problema para la salud, puesto que son el sustrato sobre el que se origina el cáncer. El circuito transcripcional controlado por GATA6 controla la expresión del morfógeno BMP4, que actúa como un potente limitador de la tumorigénesis intestinal. Este trabajo proporciona la base para futuros estudios sobre la diferente susceptibilidad de la población a padecer cáncer colorrectal, ya que las regiones reguladas por GATA6 en el locus BMP4 contienen varios polimorfismos asociados de forma muy significativa a un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad.

Un descubrimiento clave para el manejo clínico del cáncer colorrectal: la colonización de los órganos diana durante el proceso de metástasis depende de un programa molecular inducido por el TGF-beta en el microentorno del tumor

El tercer eje de mi laboratorio se centra en investigar la principal causa de muerte por cáncer colorrectal: la metástasis. Entre el 40 y el 50% de los pacientes con cáncer colorrectal desarrolla metástasis, que bien pueden estar presentes en el momento del diagnóstico, o aparecer al cabo de unos meses o años, tras finalizar la terapia curativa. La diseminación metastásica del cáncer colorrectal tiene muy mala prognosis, con un índice de supervivencia a los cinco años de tan solo el 8%. Actualmente, no existe una terapia eficaz para erradicar el cáncer colorrectal diseminado, ni manera de predecir qué pacientes desarrollarán metástasis. Esto se debe en gran parte a la escasez de conocimiento sobre los determinantes que confieren capacidad metastásica a las células del cáncer colorrectal. En este sentido, cabe destacar que no existen alteraciones genéticas asociadas a este proceso. En mi laboratorio hemos asociado la biología de las células madre del intestino a la capacidad de regeneración de las células tumorales. Por otro lado, hemos descubierto que la generación de metástasis depende en gran medida de la expresión de un programa genético inducido por la hormona TGF-beta en el microentorno de las células tumorales.[16,17] La señalización por TGF-beta instruye a las células del estroma del tumor para que secreten factores prosupervivencia y prometastásicos durante la fase de anidamiento y colonización del órgano distante, habitualmente el hígado o los pulmones. Hemos demostrado que el uso de inhibidores del TGF-beta en esta fase bloquea el crecimiento metastásico de las células de cáncer colorrectal.[16,17]

Un aspecto fundamental de esta investigación radica en que aquellos pacientes que presentan tumores con una baja expresión del programa genético dirigido por el TGF-beta tienen un riesgo prácticamente nulo de desarrollar metástasis, una información que podría contribuir a mejorar considerablemente el poder predictivo del sistema actual de clasificación de pacientes en estadios elaborado por el American Joint Committee on Cancer (AJCC) y utilizado en todos los hospitales del mundo para tomar decisiones clínicas sobre el tratamiento a seguir. Los resultados obtenidos en nuestro laboratorio pueden tener, por lo tanto, una gran repercusión para los pacientes con cáncer colorrectal, ya que por un lado demuestran que los inhibidores del TGF-beta previenen la metástasis y, por otro, son la base para el desarrollo de una prueba (Colostage) que predice el riesgo de recaer en la enfermedad tras la terapia.

Es en este momento en el que se establece mi relación con la Fundación Botín a través de dos de sus iniciativas para incentivar la transferencia tecnológica. Agradezco a la Fundación el generoso aporte recibido a través del programa Mind the Gap, que ha permitido embarcarnos en el desarrollo de la prueba que acabo de mencionar. Esta prueba predictiva permitirá mejorar las decisiones en el manejo clínico de los pacientes y también podrá ser utilizado por las empresas farmacéuticas para identificar pacientes con un mal pronóstico que pueden responder a sus terapias en ensayos clínicos. Sin duda, la participación del programa Mind The Gap ha sido absolutamente imprescindible para poder iniciar la transferencia de los resultados obtenidos en mi laboratorio en relación con el papel del TGF-beta en las metástasis. Por otro lado, la Fundación Botín brinda desde el año 2013 apoyo a mi laboratorio dentro del marco de colaboración establecido como investigador del Programa de Transferencia Tecnológica. Quizá sea prematuro plasmar algo concreto en estas líneas, pero estoy convencido de que la gran experiencia y profesionalidad del equipo de la Fundación Botín serán claves para que en un futuro cercano consigamos transferir varias tecnologías desarrolladas en mi laboratorio a empresas importantes de los sectores farmacéutico y biotecnológico.

Llegados a este punto, quiero agradecer a todas las personas que han colaborado en las investigaciones que he realizado a largo de estos años, desde mis mentores hasta los miembros de mi laboratorio. Cada una de ellas ha tenido un papel destacado y sin su contribución muchos de estos descubrimientos no hubieran sido posibles. Quiero agradecer especialmente la contribución y ayuda de Elena Sancho, que sin duda ha sido la pieza más importante en los éxitos cosechados en estos años. Me siento un privilegiado por poder dedicarme cada día a investigar. La pasión mueve el mundo y la mayoría de los grandes avances de la humanidad se han conseguido gracias a gente apasionada en lo que hacía o creía. Sin duda, la pasión por este trabajo ha sido también el combustible que ha alimentado mi carrera. Espero y deseo que la tarea de mi laboratorio sea útil para aportar soluciones a algunos de los retos biomédicos que aquí he descrito.

Bibliografía

1. E. Batlle, J. Verdú, D. Domínguez, M. del Mont Llosas, V. Díaz, N. Loukili, R. Paciucci, F. Alameda y A. García de Herreros, «Protein kinase C-alpha activity inversely modulates invasion and growth of intestinal cells», en *J Biol Chem*, vol. 273, 1998, pp. 15091-15098.

2. E. Batlle, E. Sancho, C. Franci, D. Domínguez, M. Monfar, J. Baulida y A. García de Herreros, «The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells», en *Nat Cell Biol*, vol. 2, 2000, pp. 84-89.

3. A. Cano, M. A. Pérez-Moreno, I. Rodrigo, A. Locascio, M. J. Blanco, M. G. del Barrio, F. Portillo y M. A. Nieto, «The transcription factor snail controls epithelial-mesenchymal transitions by repressing E-cadherin expression», en *Nat Cell Biol*, vol. 2, 2000, pp. 76-83.

4. V. Korinek, N. Barker, P. J. Morin, D. van Wichen, R. de Weger, K. W. Kinzler, B. Vogelstein y H. Clevers, «Constitutive transcriptional activation by a beta-catenin-Tcf complex in APC-/- colon carcinoma», en *Science*, vol. 275, 1997, pp. 1784-1787.

5. P. J. Morin, A. B. Sparks, V. Korinek, N. Barker, H. Clevers, B. Vogelstein y K. W. Kinzler, «Activation of beta-catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in beta-catenin or APC», en *Science*, vol. 275, 1997, pp. 1787-1790.

6. B. Rubinfeld, P. Robbins, M. El-Gamil, I. Albert, E. Porfiri y P. Polakis, «Stabilization of beta-catenin by genetic defects in melanoma cell lines», en *Science*, vol. 275, 1997, pp. 1790-1792.

7. E. Batlle, J. T. Henderson, H. Beghtel, M. M. van den Born, E. Sancho, G. Huls, J. Meeldijk, J. Robertson, M. van de Wetering, T. Pawson *et al.*, «Beta-catenin and TCF mediate cell positioning in the intestinal epithelium by controlling the expression of EphB/ephrinB», en *Cell*, vol. 111, 2002, pp. 251-263.

8. M. van de Wetering, E. Sancho, C. Verweij, W. de Lau, I. Oving, A. Hurlstone, K. van der Horn, E. Batlle, D. Coudreuse, A. P. Haramis *et al.*, «The beta-catenin/TCF-4 complex imposes a crypt progenitor phenotype on colorectal cancer cells», en *Cell*, vol. 111, 2002, pp. 241-250.

9. E. Batlle, J. Bacani, H. Begthel, S. Jonkheer, A. Gregorieff, M. van de Born, N. Malats, E. Sancho, E. Boon, T. Pawson *et al.*, «EphB receptor activity suppresses colorectal cancer progression», en *Nature*, vol. 435, 2005, pp. 1126-1130.

10. C. Cortina, S. Palomo-Ponce, M. Iglesias, J. L. Fernández-Masip, A. Vivancos, G. Whissell, M. Huma, N. Peiro, L. Gallego, S. Jonkheer *et al.*, «EphB-ephrin-B interactions suppress colorectal cancer progression by compartmentalizing tumor cells», en *Nat Genet*, vol. 39, 2007, pp. 376-1383.

11. G. Solanas, C. Cortina, M. Sevillano y E. Batlle, «Cleavage of E-cadherin by ADAM10 mediates epithelial cell sorting downstream of EphB signalling», en *Nat Cell Biol*, vol. 13, 2011, pp. 1100-1107.

12. N. Barker, J. H. van Es, J. Kuipers, P. Kujala, M. van den Born, M. Cozijnsen, A. Haegebarth, J. Korving, H. Begthel, P. J. Peters *et al.*, «Identification of stem cells in small intestine and colon by marker gene Lgr5», en *Nature*, vol. 449, 2007, pp. 1003-1007.

13. P. Jung, T. Sato, A. Merlos-Suárez, F. M. Barriga, M. Iglesias, D. Rossell, H. Auer, M. Gallardo, M. A. Blasco, E. Sancho *et al.*, «Isolation and in vitro expansion of human colonic stem cells», en *Nat Med*, vol. 17, 2011, pp. 1225-1227.

14. A. Merlos-Suárez, F. M. Barriga, P. Jung, M. Iglesias, M. V. Céspedes, D. Rossell, M. Sevillano, X. Hernando-Momblona, V. da Silva-Diz, P. Muñoz *et al.*, «The intestinal stem cell signature identifies colorectal cancer stem cells and predicts disease relapse», en *Cell Stem Cell*, vol. 8, 2011, pp. 511-524.

15. G. Whissell, E. Montagni, P. Martinelli, X. Hernando-Momblona, M. Sevillano, P. Jung, C. Cortina, A. Calon, A. Abuli, A. Castells *et al.*, «The transcription factor GATA6 enables self-renewal of colon adenoma stem cells by repressing BMP gene expression», en *Nat Cell Biol*, vol. 16, 2014, pp. 695-707.

16. A. Calon, E. Espinet, S. Palomo-Ponce, D. V. F. Tauriello, M. Iglesias, M. V. Céspedes, M. Sevillano, C. Nadal, P. Jung, X. H. Zhang *et al.*, «Dependency of colorectal cancer on a TGF-beta-driven program in stromal cells for metastasis initiation», en *Cancer Cell*, vol. 22, 2012, pp. 571-584.

17. A. Calon, E. Lonardo, A. Berenguer-Llergo, E. Espinet, X. Hernando-Momblona, M. Iglesias, M. Sevillano, S. Palomo-Ponce, D. V. F. Tauriello, D. Byrom, C. Cortina *et al.*, «Stromal gene expression defines por-prognosis subtypes in colorectal cancer», en *Nature Genetics*, 2015, DOI: 10.1038/ng.3225.

RAÚL MÉNDEZ

DESCODIFICANDO AL TRADUCTOR

26

«No hay ciencias aplicadas, solo aplicaciones de la ciencia»
Louis Pasteur

Esta frase y sus numerosas versiones posteriores, «no hay ciencia aplicada sin ciencia que aplicar» (Bernardo Houssay), por citar solo dos premios Nobel, es tan obvia como frecuentemente ignorada, hasta el punto de que incluso los propios científicos tendemos a autosegregarnos en una de las dos facetas, aunque sea subconscientemente. Sin embargo, la historia reciente está plagada de ejemplos de aplicaciones de enorme impacto económico y social que surgieron de una investigación aparentemente movida por la curiosidad y la inherente necesidad del ser humano de entendernos a nosotros mismos y al mundo en el que vivimos. Así, la medicina moderna no podría concebirse sin los trabajos que determinaron la estructura del ADN; la primera cura contra la gripe vino de la determinación de la estructura de la neuraminidasa, la enzima que usa el virus para infectar la célula, que, al igual que la transtiretina, han permitido desarrollar fármacos contra el alzhéimer. Internet, el láser, la lista no tiene fin, pero quizá el mejor ejemplo es el descubrimiento de uno de los antitumorales más efectivos, la cisplatina, cuyo origen se encuentra en los experimentos de Barnett Rosenberg,[1] un biofísico que estudiaba el efecto que un campo electromagnético ejercía en la división bacteriana. Rosenberg vio que, sometidas a un campo eléctrico, las bacterias dejaban de dividirse, pero no era por las razones que inicialmente le llevaron a realizar el experimento, sino por una reacción química entre el cloruro amónico y el platino de los electrodos: había descubierto el diaminodicloroplatino (cisplatino) y sus propiedades para inhibir la proliferación celular. Años después, estas propiedades serían aplicadas para frenar la proliferación descontrolada que caracteriza a los tumores, incrementando la tasa de curación del 10 al 85% para el cáncer testicular y a más del 50% para el cáncer cervical.[2-4] Actualmente, el cisplatino se emplea en el tratamiento de gran variedad de tumores sólidos y ha sido objeto de más de 56.000 trabajos de investigación. Aunque el impacto (aplicación) de estos descubrimientos no era evidente en el momento en el que se realizaban los trabajos, no hay más que mirar a California o a Massachusetts para darse cuenta de la enorme proyección que la investigación básica puede tener en una industria tecnológica basada en el conocimiento.

A principios de 2014, cuando recibí la llamada de don Pedro García Barreno, ya tenía referencias de la filosofía del Programa de Transferencia Tecnológica de la Fundación Botín por amigos y colegas a los que admiro y que formaban parte de esta iniciativa. Una idea que, por simple, no dejaba de ser innovadora en un país donde el enorme potencial existente en la investigación académica no se ha traducido en parejas aplicaciones tecnológicas. Que la investigación básica conduzca a aplicaciones es, no solo obvio, sino cierto, pero... ¿en cuántas ocasiones es el mismo grupo el que recorre el camino que va de una a otra? ¿Cómo podíamos nosotros, que trabajábamos en la base de la base, llegar a transferir algo

si ni siquiera sabíamos hablar el mismo lenguaje que las empresas? ¿Por dónde íbamos a empezar? A los pocos días, Pedro vino a vernos al Institute for Research in Biomedicine (IRB) de Barcelona y entonces comencé a entender el verdadero valor del proyecto: no era únicamente el apoyo a nuestra investigación, sino toda su experiencia para transitar por esa zona desconocida para nosotros. Además, ¿quizá había llegado en el momento adecuado?

Todo está en los libros

Nací y crecí en el Madrid preconstitucional en una familia que vivía de y para los libros, editores, traductores y autores. A pesar del intenso influjo de la literatura, pronto fue evidente que me llamaba más la Sierra de Guadarrama que el acueducto de Segovia y los gorilas de la pluvisilva de Uganda que la caverna de Platón. Pero, como no podía ser completamente inmune a la influencia familiar, las andanzas de Richard Francis Burton y Charles Darwin se convirtieron en mi síntesis particular de literatura y biología. ¿Qué podría haber sido mejor que navegar en el *Beagle*? Como la infancia es la infancia y Jack London es la otra cara de Darwin, resultó muy fácil compatibilizar los libros de zoología con la vida en los Mares del Sur o los épicos viajes en trineo por el Klondike. Y no debía de ir tan desencaminado, porque años después escucharía a un eminente científico decir que, después de la de pirata, la profesión más arriesgada era la de científico, y estoy seguro de que Jack London habría escrito más de una magnífica novela con el proceso de revisión de algunos trabajos científicos. En una versión moderada —seguro que a mi madre le hubiera gustado que hubiera sido aún más moderada— de *Bichos y demás parientes*, de Gerald Durrell, llegué al instituto donde «don Carlos», el profesor de Biología, me hizo ver que el ciclo de Krebs no tenía nada que envidiar a las Fuentes del Nilo y que el viaje dentro de una célula tenía el mismo, si no más, potencial que el del *Beagle*. Así que abandoné a Durrell, Burton y Darwin por Lehninger (que escribió la biblia de la bioquímica), Asimov y Luria (cuyo libro *36 lecciones de Biología*, regalo de un buen amigo, fue mi libro de cabecera muchos años). London también fue remplazado por Hemingway, Gabriel García Márquez, Upton Sinclair y muchos que vendrían después. Al mismo tiempo, descubrí la montaña y la escalada, pero esa es otra historia. Con esas armas, el *Atlas de microscopia* de J. Bernis Mateu y un microscopio de campo que me regaló mi madre, llegue a la Universidad Autónoma de Madrid (UAM), donde tuve la fortuna de contar con magníficos profesores. Por mencionar alguno, y sabiendo que cometo una injusticia de omisión, de Federico Mayor Zaragoza, además de enzimología, aprendí que la comunicación era una parte de la ciencia, y de Ginés Morata, que nos descubría la biología del desarrollo, que lo que no se sabe es mucho más interesante que lo que ya se conoce.

Empezando por los mecanismos

Tras un breve paso por el Departamento de Citogenética de la UAM en cuarto curso de carrera, descubrí lo que desde entonces ha sido mi pasión, la regulación de la traducción. A pesar de la homonimia, esta es bien distinta de la que ejercieron mis padres y abuelos —y que me proporcionó techo y comida durante mi infancia—, o ¿quizá no tanto y al final sí que continué con la tradición familiar?

En biología, traducción se refiere a la descodificación de la información almacenada en el genoma, en un código de cuatro letras, a las proteínas, los componentes funcionales de las células formadas por más de veinte aminoácidos. El genoma esta formado por ácido desoxirribonucleico (ADN), un polímero de cuatro bases, estructurado como una hebra doble (con dos cadenas antiparalelas) compactada en cromosomas y almacenada en el núcleo. Esta organización es óptima para poder ser copiada con exactitud transmitiendo la información de una célula a su progenie. Sin embargo, el ADN no puede ser traducido directamente a proteínas, sino que necesita una molécula intermedia denominada ácido ribonucleico mensajero (ARNm). El ARNm está formado por una modificación de las mismas cuatro bases pero de cadena sencilla, lo que permite que sea traducido. Además, el ARNm contiene una información resumida del genoma, incluyendo solo aquellas secuencias que codifican para los aminoácidos de las proteínas flanqueadas por unas regiones no traducidas (UTR) que contienen señales de regulación. Una vez sintetizados (transcritos) en el núcleo, los ARNm se transportan al citoplasma, que es donde está la maquinaria responsable de traducirlos a proteínas (los factores de traducción y los ribosomas).

En una de las largas sobremesas familiares, le intentaba explicar a mis padres, expertos en filología románica, a qué dedicaba todas esas horas en el laboratorio, y aunque no soy fan de las analogías, el siguiente ejemplo me sirvió para explicar a qué pensaba dedicar el resto de mi vida laboral. El genoma sería una colección de toda la música jamás compuesta y material relacionado. Esta «música» estaría en un potente ordenador (el núcleo) que lo guardaría en un código binario (el ADN). Este ordenador podría copiar toda la música fácilmente (para transmitírsela a nuestros hijos), pero no podría reproducirla. En un momento dado, querríamos hacer una selección de canciones para escucharlas, así que copiaríamos en CD las distintas piezas que quisiéramos escuchar, todavía en código binario (los ARNm). Estas copias nos las podríamos llevar al salón (el citoplasma) para escucharlas tranquilamente. Pero este CD no produce música, es solo una secuencia de ceros y unos. Para transformarlo en música necesitamos un lector de CD que transforme esta información de dos componentes en las múltiples notas que forman la música (las proteínas). El lector de CD sería el ribosoma, y la forma en la que el lector descifra ese código para producir música, la traducción. El orden en el que se reproducen las canciones, su volumen y ecualización constituirían la regulación de la traducción. Obviamente, si la lectura no se produce correctamente o si su regulación no es la adecuada, en vez de una agradable velada tendremos una cacofonía insoportable. A estudiar cómo se regula la iniciación de la traducción y las patologías producidas cuando la lectura no se realiza correctamente es a lo que iba a dedicar, hasta el momento, veintisiete años de mi vida.

En el quinto y último curso de la licenciatura escribí al doctor Severo Ochoa para explorar la posibilidad de entrar en su laboratorio. Así me incorpore al grupo del doctor César de Haro, en el Centro de Biología Molecular Severo Ochoa (CBMSO), que dirigía una de las líneas del mencionado laboratorio y que acabaría siendo mi director de tesis y un gran amigo. Eran los tiempos de la bioquímica de los factores de iniciación de la traducción, donde los avances se medían directamente por las horas que pasábamos en la cámara fría purificando la maquinaria básica que llevaba los ribosomas hasta los ARNm, para poder reconstituir el proceso en el tubo de ensayo. Como toda iniciación, la de la traducción también tiene sus dogmas y,

para un bioquímico, la «biblia» la escribió Arthur Kornberg en «Los diez mandamientos de la Enzimología».[5] Para mi tesis doctoral, el «mandamiento» más importante fue el quinto (*Not waste clean thinking on dirty enzymes*), algo así como «No malgastes buenas ideas en enzimas sucias», y me llevó más de cinco años obtener algo razonablemente limpio. Con la biología molecular, este mandamiento fue perdiendo relevancia, pero no así el cuarto (*Not believe something just because you can explain it*), «No te creas algo solo porque puedas explicarlo». Kornberg llegó a esta conclusión cuando, estudiando el ADN y «cegado» por lo que esperaba encontrar, ignoró las evidencias que le hubieran llevado a descubrir los ARNm.

Considerando que para que el ribosoma reconociera el ARNm y descodificara la información almacenada en el genoma hacían falta más de 300 polipéptidos (proteínas), purificar cada uno de ellos y reconstruir el proceso en un tubo de ensayo era una tarea hercúlea en la que reinaban Merrick y Hershey. Yo decidí seguir los pasos de uno de los tándems más famosos de la época de oro de la bioquímica de la traducción, Tim Hunt y Richard Jackson (Tim Hunt después ganaría el Premio Nobel en el campo del ciclo celular por el descubrimiento de las ciclinas), y pasé cinco años purificando y caracterizando una quinasa que fosforilaba uno de los factores de iniciación de la traducción, el eIF2, encargado de llevar a la subunidad menor del ribosoma el ARN de transferencia que incorpora el primer aminoácido de la proteína que se va a sintetizar.[6,7] Esta quinasa, que ha recibido múltiples nombres (HCI, HRI y HCR), acopla la síntesis de globina a los niveles disponibles de hierro en los precursores de los glóbulos rojos para optimizar la producción de la hemoglobina. Este, junto con la lucha entre los virus y las células por controlar la maquinaria de traducción celular, era uno de los pocos casos conocidos de regulación de la expresión génica en el ámbito de la traducción en unos momentos en los que el foco de la regulación de la expresión génica estaba centrado casi exclusivamente en la transcripción.

La diabetes, por accidente

A principio de los noventa, en los congresos del campo de la traducción empezaron a aparecer dos grupos de «intrusos»: los biólogos del desarrollo y los biólogos celulares del cáncer. Para mí fue una auténtica revolución. No solo se trataba de ver cómo funcionaba la maquinaria que traducía los ARNm a proteínas, sino cómo su regulación, o desregulación, era esencial en procesos básicos como el desarrollo del embrión o patológicos como el cáncer. Estos procesos de regulación espacial y temporal de la traducción definían la polaridad y diferenciación celular, por lo que de una sola célula se generaba un organismo con órganos diferenciados y especializados. La clave de este proceso era que estos tránscritos, además de usar toda la maquinaria general de la traducción, contenían secuencias específicas en sus regiones no codificantes para proteína (UTR) que eran reconocidas por factores que le conferían una regulación independiente del resto de ARNm. Al mismo tiempo, el grupo del doctor Nahum Sonenberg demostraba que la regulación de los niveles y actividad de los factores generales que controlan la traducción de todos los ARNm, como el eIF4E (el factor de iniciación que reconoce al ARNm para «presentárselo» al ribosoma), podían actuar como oncogenes promoviendo la formación de tumores.[8] La clave de este descubrimiento fue que los factores generales de iniciación de la traducción podían actuar también como reguladores específicos de tránscritos que codifican para factores que promueven la transformación

celular. La nueva perspectiva subyacente a este descubrimiento es que los ARN tienen eficiencias intrínsecamente diferentes y que los tumores se aprovechan de ellas para escapar a los frenos de la proliferación celular, creciendo de manera descontrolada.

Esta nueva perspectiva abría un enorme potencial para los mecanismos postranscripcionales de regulación de la expresión génica en procesos biológicos esenciales, incluyendo procesos de división y diferenciación celular, y patológicos como el cáncer. Por su relevancia en patologías humanas, decidí realizar el posdoctorado estudiando el papel del eIF4E en cáncer, en el grupo del doctor Robert E. Rhoads en el LSU-Medical Center (LSUMC), en Shreveport, Luisiana (Estados Unidos).

La llegada al nuevo laboratorio no pudo ser más accidentada. Primero, descubrí que el «sur profundo» era más profundo de lo que había pensado. Después me enteré de que el proyecto del eIF4E como potenciador tumoral ya «tenía dueño». Y, en último lugar, me rompí dos ligamentos de una rodilla en un partido de voleibol en mi fiesta de bienvenida, lo que me impedía empezar a realizar el trabajo experimental. Como no hay mal que por bien no venga, esas semanas de inactividad forzada me permitieron dedicarme a leer publicaciones y diseñar un nuevo proyecto. Para ello, establecimos una colaboración con el grupo del doctor Morris F. White en el Joslin Diabetes Center, en Harvard, Boston, lo que además tenía el aliciente de que me permitía pasar unas semanas al año en esta ciudad, culturalmente más afín que Shreveport. De esta colaboración, en la cual diseccionamos la ruta de transducción de señales por la que la insulina regulaba la traducción a través del eIF4E, salieron algunas de las publicaciones pioneras en este campo, entre las que se encuentra uno de mis trabajos más citados.[9] En el LSUMC-Shreveport conocí a Mercedes Fernández, investigadora posdoctoral que había venido de Barcelona para trabajar en el laboratorio del doctor Matt B. Grisham, y juntos decidimos trasladarnos al University of Massachusetts Medical Center (UMASSMED), uno de los centros de mayor crecimiento de Estados Unidos y del que teníamos referencias por Juan Valcárcel y Fátima Gebauer. Juan y Fátima eran antiguos compañeros del doctorado en el CBMSO con los que continuaría cruzando caminos hasta la misma Fundación Botín.

La biología del desarrollo, en el «sapo con garras» (*Xenopus laevis*)

En el UMASSMED me incorporé al grupo del doctor Joel D. Richter, que estudiaba cómo se regula la traducción de los ARN maternos durante la meiosis (las divisiones celulares por las que se generan los óvulos) y el desarrollo embrionario. En el UMASSMED tuvimos la oportunidad de impregnarnos de un ambiente donde trabajaban auténticos pioneros de la biología del ARN, y de una forma de hacer ciencia sin complejos, con ilusión y dedicación absoluta. Fueron unos años fantásticos en los que pudimos dedicarnos a hacer ciencia sin preocuparnos de nada más y a disfrutar de la acogedora Nueva Inglaterra.

Los gametos, óvulos y espermatozoides son células únicas en cuanto a que han de contener solo la mitad de la información genética, de modo que cuando se produce la fertilización se reconstituye una copia completa de los genes necesarios para formar un organismo. Además,

cada gameto contiene una combinación única de genes que se obtiene «mezclando» los genes heredados vía paterna y materna en un proceso que se conoce como «recombinación meiótica». Para obtener estas células se han de producir dos divisiones celulares sin replicar el ADN. Estas dos divisiones y las primeras divisiones celulares en el embrión (divisiones embrionarias) están cuidadosamente orquestadas para que la información génica se reparta correctamente entre todas las células que formarán el organismo adulto, a la vez que cada célula va paulatinamente adquiriendo las distintas funciones que realizarán en el organismo adulto. Este proceso de diferenciación celular es lo que permite que de una sola célula se generen los distintos órganos. Obviamente, que tengamos dos piernas, dos brazos, una cabeza, un corazón, etcétera, requiere que cada célula exprese una combinación de proteínas concreta, en unos momentos definidos y en unas localizaciones precisas. Sin embargo, durante las divisiones meióticas y embrionarias, la información contenida en el ADN no es accesible. Para solventar esta limitación, durante la formación de los óvulos se almacenan ARNm silenciados que codifican para todas las proteínas que van a hacer falta durante las divisiones mitóticas y en las primeras etapas del embrión. La existencia de estos ARNm, denominados ARNm maternos porque se heredan a través del óvulo, se conocía desde mediados del siglo XX, pero no fue hasta finales de siglo cuando se empezó a entender cómo se regulaban liberando la información que contenían en el momento preciso para ir generando el embrión. En 1990, los grupos de Joel D. Richter y Marvin P. Wickens identificaron una secuencia específica, el elemento de poliadenilación citoplásmico (CPE), en la región de estos ARN maternos que no codifica para proteínas (3'-UTR), y en 1994 el grupo de Joel la proteína que reconocía esta secuencia (denominada CPEB). La identificación de los elementos que controlan la traducción de los ARN maternos permitía estudiar los mecanismos moleculares que dirigen la formación de los oocitos (óvulos). El modelo en el que trabajaban en el laboratorio de Joel, los oocitos de *Xenopus laevis*, uno de esos fósiles vivientes que se quedaron anclados a medio camino de la evolución antes de que ranas y sapos tomaran caminos separados, era el paraíso para un bioquímico reconvertido a biólogo celular. Es un modelo de vertebrado razonablemente próximo a humanos a los que cualquier extrapolación es inmediata, y es el único sistema en el que trabajando en vivo se puede hacer bioquímica en una única célula. Con la CPEB recién descubierta y un mundo de incógnitas por delante, decidí aplicar los conocimientos adquiridos en el grupo de Bob Rhoads y estudiar cómo la estimulación por progesterona regulaba la CPEB, y esta a su vez controlaba las divisiones celulares en el desarrollo embrionario. Desde el punto de vista puramente científico, esta ha sido probablemente la época más gratificante de mi carrera. Un campo «casi virgen», una pregunta científicamente apasionante, un mentor brillante y unos fantásticos compañeros de laboratorio. Además, como posdoctorando, estaba liberado de cualquier tipo de carga administrativa, y de las imposiciones de conseguir financiación, mientras Joel me daba libertad absoluta para llevar mis experimentos por donde creyera conveniente. En este ambiente realizamos algunos de los trabajos pioneros en el mecanismo de acción de las CPEB, que tuvieron un impacto importante en la regulación traduccional de ARNm que controlaban la división de las células.[10-12]

Los comienzos desde el subsuelo

El milenio llegaba a su fin y tocaba poner punto final a esta etapa y empezar a pensar en fundar nuestros propios laboratorios. Todo apuntaba a que nos quedaríamos definitivamente en Estados Unidos —cambiando la costa este por la oeste y un poco más al norte—

cuando vimos un anuncio en *Nature* de un nuevo instituto que se fundaba en Barcelona. Escribí y en pocos días estaba en Barcelona entrevistándome con el doctor Miguel Beato, su director, y en ese momento único investigador principal del Centre de Regulació Genòmica (CRG) de Barcelona. Decididamente, la falta de entusiasmo no ha sido nunca un problema para Miguel y, aunque en esos momentos el CRG no tenía ni siquiera sede física, más allá de un agujero donde se suponía que irían los cimientos del futuro centro —que además se llenaba de agua porque estaba en la orilla y por debajo del nivel del mar—, el prestigio de Miguel, el proyecto de hacer un centro «distinto» siguiendo el modelo del EMBL y el apoyo decidido de la Generalitat —con el conseller Andreu Mas-Colell a la cabeza— me hicieron pensar que lo que se veía no era ningún símbolo del futuro del CRG y que era una apuesta que merecía la pena. A finales de 2001 me incorporé al CRG, aunque no fue hasta el verano de 2002 cuando, después de trabajar más con arquitectos que con científicos, tuvimos laboratorios en los que empezar a trabajar. Para entonces, el CRG había conseguido reclutar un buen número de excelentes grupos, entre ellos los de Juan y Fátima, con los que ya había cruzado caminos durante la tesis y en el UMASSMED. En este nuevo ambiente empezó y maduró el primer grupo que tendría la oportunidad de dirigir, junto a un reducido número de colaboradores con la vocación necesaria como para embarcarse en una aventura con más futuro que presente y el talento suficiente para sacarlo a flote. Como siempre ocurre en ciencia, el «ambiente» en el que estábamos moldeó el abordaje llevándonos a una perspectiva más global y decidimos empezar con una pregunta aparentemente sencilla: ¿cómo se determinaba cuáles de esos ARNm maternos se activaban en cada momento? y ¿cómo se definía dónde se sintetizaban las proteínas para las que codificaban?

Estas preguntas resultaron no ser tan sencillas como parecían y nos llevó más de cinco años contestarlas, pero en la respuesta se encontraba un nuevo código, como los códigos de barras, por el que los ARN incluían en sus regiones no codificantes (las que no llevan la información sobre la proteína para la que codifican) la información necesaria para saber cuándo y dónde se habían de sintetizar las proteínas para las que codificaba y cómo la célula era capaz de leer ese «código de barras».[13-16] Eso nos permitía no solo «leer» los ARNm y predecir su comportamiento, sino generar ARNm artificiales que se comportaran de una manera definida. También incluía una sorpresa, las dianas de este mecanismo de regulación de la expresión génica iban mucho más allá de los pocos ARNm maternos que controlaban el desarrollo embrionario temprano e incluían hasta el 20% de los genes, implicando por lo tanto multitud de funciones del organismo adulto.[17] Pero no menos importante es, durante estos años iniciales en Barcelona en los que tanto Mercedes como yo creábamos nuestros respectivos grupos de investigación, en el IDIBAPS/Hospital Clínic y en el CRG, el nacimiento de nuestros hijos, Pablo y Ana, que desde entonces han sido el motor de nuestra investigación, dándonos la perspectiva de «para qué» hacemos el trabajo que hacemos.

Paralelamente, los grandes proyectos de secuenciación nos permitieron ver que la CPEB no es solo una proteína, sino una familia de cuatro miembros (CPEB1, CPEB2, CPEB3 y CPEB4). La primera evidencia clara de una función de las CPEB en el organismo adulto vino del grupo de Joel D. Richter, el descubridor de estas proteínas, que demostró que la CPEB1 estaba implicada en el establecimiento de la memoria a largo plazo. Desde un punto de vista molecular, la memoria se establece mediante el marcaje de las conexiones entre neuronas (sinapsis), de manera que «sepan» si han sido previamente estimuladas. En el año 2000, el doctor

Eric Kandel obtuvo el Premio Nobel por demostrar que esta «marca» se basaba en la síntesis de proteínas localizada en las sinapsis en respuesta a su estimulación. El laboratorio de Richter demostró que el mecanismo que controlaba esta traducción localizada era el mismo que el que regulaba los ARNm maternos durante la formación de los óvulos.[18] Recientemente, el mismo laboratorio ha evidenciado que el retraso cognitivo originado por el síndrome X frágil, segundo en número después del síndrome de Down, se puede revertir eliminando la CPEB1.[19]

Para nuestro grupo, el salto a las aplicaciones biomédicas vino de una casualidad que ilustra la importancia de la concentración multidisciplinar de la investigación en un entorno que facilite la interacción. Haber descifrado el código por el que los ARNm llevan la información de su regulación espacio-temporal nos permitía «leerlos» y buscar posibles dianas. Muchos ratos muertos transcurrían leyendo secuencias que pensábamos que podían ser relevantes o que nos enviaban nuestros colegas para saber si debían explorar este mecanismo en sus genes favoritos. Una de estas nos llegó de Pilar Navarro y Paco Real, que estaban en el Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques (IMIM), con el que compartíamos edificio. Pilar y Paco trabajaban en tumores de páncreas donde habían identificado una proteína (TPA) que se sobreexpresaba en los tumores permitiendo su crecimiento. Para su sorpresa, cuando midieron los niveles del ARNm que codificaba para esa proteína en tejido sano y en muestras de pacientes, vieron que no había una correlación directa, sino todo lo contrario, entre los niveles de proteína y los niveles de ARNm. Este es un indicio claro de regulación traduccional, así que se pusieron en contacto con nosotros para que «leyésemos» la secuencia del ARNm que codificaba para TPA. Cinco años más tarde completamos el trabajo que demostraba que en tumores, pero no en páncreas sanos, se expresaba CPEB4, reactivando el patrón de expresión génica propio de las células embrionarias, lo que permitía al tumor crecer e invadir los tejidos adyacentes. De hecho, eliminar la CPEB4 reducía el crecimiento del tumor en más del 80% e impedía que se vascularizase, con lo que el tumor no podía recibir el aporte de nutrientes y oxígeno necesario para su crecimiento.[20] Poco después, identificaríamos a otra CPEB, la CPEB1, como un factor que mediaba la reprogramación de la expresión génica en células tumorales derivadas de un linfoma de Hodgkin.[21] Estas observaciones y la experiencia de combinar nuestros conocimientos mecanísticos con otros grupos más próximos a la investigación clínica nos animó a explorar un posible papel de las CPEB en patologías donde estuviera implicada la formación de nuevos vasos sanguíneos y esta vez la colaboración surgió de un sitio todavía más próximo. Mercedes trabajaba en enfermedades hepáticas crónicas, como la cirrosis, y la formación de nuevos vasos sanguíneos asociados al curso de la enfermedad. Cuatro años más tarde habíamos demostrado que la desregulación de las CPEB contribuía al desarrollo de la enfermedad.

Actualmente, tenemos en marcha media docena larga de colaboraciones que estudian posibles implicaciones de las CPEB en procesos patológicos.

Por fantástico que sea el sistema de oocitos de *Xenopus* para definir los mecanismos moleculares de la actividad y regulación de las CPEB, este organismo tiene dos problemas irresolubles a la hora de realizar abordajes genéticos que nos permitan definir de una manera sistemática las funciones de estas proteínas en el organismo adulto y sus posibles implicaciones patológicas. Por un lado, es un organismo tetraploide, es decir, que tiene cuatro copias de cada gen, lo que ha hecho que no pase a formar parte de los modelos experimentales para los

que se ha secuenciado su genoma. Por otro lado, es un organismo muy longevo y que tarda unos cinco años en alcanzar la madurez sexual, por lo que obtener individuos genéticamente modificados llevaría decenas de años. Así que decidimos cambiar de sistemas y empezar a generar modelos de ratón modificando cada una de las cuatro CPEB.

La vuelta al mundo para recorrer seis kilómetros

En este punto de nuestras investigaciones, nos aproximábamos a los ocho años que se consideraba que debía durar la etapa como jefe de grupo júnior en el CRG y empezamos a pensar en cambiar de centro de investigación. Además, las nuevas direcciones abiertas con las nuevas funciones de las CPEB en el organismo adulto y su posible implicación en diversas patologías podían beneficiarse de un entorno donde otros grupos trabajaran en modelos de ratón y cáncer. Como todo investigador lleva un nómada dentro, cualquier cambio empieza por sacar el mapamundi y el teléfono. Cónclave familiar: ¿volvemos a Estados Unidos, a Madrid?, ¿probamos en Suiza o Alemania? (dos de los países que mayor esfuerzo e inversión dedican a investigación). En Suecia, los inviernos son eternos y Australia está muy lejos, así que quedaron descartados. Al final, la respuesta estaba mucho más cerca: la Institució Catalana de Recerca i Estudis Avançats (ICREA) y el Institute for Research in Biomedicine (IRB) de Barcelona, de nuevo dos proyectos surgidos de la visión de Andreu Mas-Colell. No hicieron falta más de dos reuniones con Joan Guinovart, director del IRB, y Joan Massagué, entonces vicedirector del IRB y ahora director del Memorial Sloan Kettering Cancer Center, para ver que no hacía falta el mapamundi y que bastaba con el plano del metro de Barcelona. El IRB tenía la visión de futuro, la ilusión y la atmósfera de colaboración que estábamos buscando. Además, en el IRB tendría acceso a las tecnologías punteras y al ambiente de excelencia científica necesario para desarrollar los modelos de ratón y las colaboraciones indispensables para profundizar en el papel fisiológico y patológico de las CPEB. Además, al seguir en Barcelona podíamos continuar disfrutando de las colaboraciones que habíamos tejido en el CRG, permitiéndonos mantener la investigación más básica en los mecanismos de acción de las CPEB. La filosofía del IRB también potencia enormemente la transferencia tecnológica, complementando a la perfección el espíritu del programa de la Fundación Botín.

Durante los tres años que llevamos en el IRB hemos continuado estudiando los mecanismos por los que las CPEB regulan la expresión de los genes, cómo las CPEB se regulan en respuesta a las señales que recibe la célula, hemos determinado la estructura de las CPEB en colaboración con el doctor Frederic Allain, del ETH de Zúrich,[22] hemos caracterizado algunas de las funciones fisiológicas de las CPEB en el organismo adulto y, usando modelos de ratón en los que, una a una, hemos inactivado las cuatro CPEB, hemos comenzado a definir las consecuencias patológicas de una regulación incorrecta de estas proteínas. Los resultados de estas investigaciones han puesto en evidencia el enorme potencial clínico que tendrían fármacos específicos que actúen sobre las CPEB y estamos trabajando en un sistema que nos permita realizar una identificación sistemática de tales compuestos. Sin embargo, al final del día, uno es un investigador básico, un bioquímico, y el salto a aplicar ese conocimiento produce un cierto vértigo, más cuando en esos tres años se ha producido una crisis económica en el país que ha golpeado durísimamente a la investigación. Con las dudas de saber si seríamos capaces de dar el salto a la transferencia tecnológica, llegó la llamada de Pedro.

Bibliografía

1. B. Rosenberg, L. Vancamp y T. Krigas, «Inhibition of cell division in escherichia coli by electrolysis products from a platinum electrode», en *Nature*, vol. 205, 1965, pp. 698-699.

2. H. M. Keys, B. N. Bundy, F. B. Stehman, L. I. Muderspach, W. E. Chafe, C. L. Suggs III, J. L. Walker y D. Gersell, «Cisplatin, radiation, and adjuvant hysterectomy compared with radiation and adjuvant hysterectomy for bulky stage IB cervical carcinoma», en *N Engl J Med New*, vol. 340, 1999, pp. 1154-1161.

3. P. G. Rose, B. N. Bundy, E. B. Watkins, J. T. Thigpen, G. Deppe, M. A. Maiman, D. L. Clarke-Pearson y S. Insalaco, «Concurrent cisplatin-based radiotherapy and chemotherapy for locally advanced cervical cancer», en *N Engl J Med New*, vol. 340, 1999, pp. 1144-1153.

4. L. H. Einhorn, «Treatment of testicular cancer: a new and improved model», en *J Clin Oncol*, vol. 8, 1990, pp. 1777-1781.

5. A. Kornberg, «Ten commandments of enzymology, amended», en *Trends Biochem Sci*, vol. 28, 2003, pp. 515-517.

6. R. Méndez y C. de Haro, «Casein kinase II is implicated in the regulation of heme-controlled translational inhibitor of reticulocyte lysates», en *J Biol Chem*, vol. 269, 1994, pp. 6170-6176.

7. R. Méndez, A. Moreno y C. de Haro, «Regulation of heme-controlled eukaryotic polypeptide chain initiation factor 2 alpha-subunit kinase of reticulocyte lysates», en *J Biol Chem*, vol. 267, 1992, pp. 11500-11507.

8. A. Lazaris-Karatzas, M. R. Smith, R. M. Frederickson, M. L. Jaramillo, Y. L. Liu, H. F. Kung y N. Sonenberg, «Ras mediates translation initiation factor 4E-induced malignant transformation», en *Genes Dev*, vol. 6, 1992, pp. 1631-1642.

9. R. Méndez, M. G. Jr. Myers, M. F. White y R. E. Rhoads, «Stimulation of protein synthesis, eukaryotic translation initiation factor 4E phosphorylation, and PHAS-I phosphorylation by insulin requires insulin receptor substrate 1 and phosphatidylinositol 3-kinase», en *Mol Cell Biol*, vol. 16, 1996, pp. 2857-2864.

10. R. Méndez, D. Barnard, y J. D. Richter, «Differential mRNA translation and meiotic progression require Cdc2-mediated CPEB destruction», en *EMBO J*, vol. 21, 2002, pp. 1833-1844.

11. R. Méndez, L. E. Hake, T. Andresson, L. E. Littlepage, J. V. Ruderman y J. D. Richter, «Phosphorylation of CPE binding factor by Eg2 regulates translation of c-mos mRNA», en *Nature*, vol. 404, 2000, pp. 302-307.

12. R. Méndez, K. G. Murthy, K. Ryan, J. L. Manley y J. D. Richter, «Phosphorylation of CPEB by Eg2 mediates the recruitment of CPSF into an active cytoplasmic polyadenylation complex», en *Mol Cell*, vol. 6, 2000, pp. 1253-1259.

13. A. Igea y R. Méndez, «Meiosis requires a translational positive loop where CPEB1 ensues its replacement by CPEB4», en *EMBO J*, vol. 29, 2010, pp. 2182-2193.

14. M. Pique, J. M. López, S. Foissac, R. Guigo y R. Méndez, «A combinatorial code for CPE-mediated translational control», en *Cell*, vol. 132, 2008, pp. 434-448.

15. E. Belloc y R. Méndez, «A deadenylation negative feedback mechanism governs meiotic metaphase arrest», en *Nature*, vol. 452, 2008, pp. 1017-1021.

16. C. Eliscovich, I. Peset, I. Vernos y R. Méndez, «Spindle-localized CPE-mediated translation controls meiotic chromosome segregation», en *Nat Cell Biol*, vol. 10, 2008, pp. 858-865.

17. I. Novoa, J. Gallego, P. G. Ferreira y R. Méndez, «Mitotic cell-cycle progression is regulated by CPEB1 and CPEB4-dependent translational control», en *Nat Cell Biol*, vol. 12, 2010, pp. 447-456.

18. L. Wu, D. Wells, J. Tay, D. Mendis, M. A. Abbott, A. Barnitt, E. Quinlan, A. Heynen, J. R. Fallon y J. D. Richter, «CPEB-mediated cytoplasmic polyadenylation and the regulation of experience-dependent translation of alpha-CaMKII mRNA at synapses», en *Neuron*, vol. 21, 1998, pp. 1129-1139.

19. T. Udagawa, N. G. Farny, M. Jakovcevski, H. Kaphzan, J. M. Alarcón, S. Anilkumar, M. Ivshina, J. A. Hurt, K. Nagaoka, V. C. Nalavadi *et al.*, «Genetic and acute CPEB1 depletion ameliorate fragile X pathophysiology», en *Nat Med*, vol. 19, 2013, pp. 1473-1477.

20. E. Ortiz-Zapater, D. Pineda, N. Martínez-Bosch, G. Fernández-Miranda, M. Iglesias, F. Alameda, M. Moreno, C. Eliscovich, E. Eyras, F. X. Real *et al.*, «Key contribution of CPEB4-mediated translational control to cancer progression», en *Nat Med*, vol. 18, 2011, pp. 83-89.

21. F. A. Bava, C. Eliscovich, P. G. Ferreira, B. Minana, C. Ben-Dov, R. Guigo, J. Valcárcel y R. Méndez, «CPEB1 coordinates alternative 3'-UTR formation with translational regulation», en *Nature*, vol. 495, 2013, pp. 121-125.

22. T. Afroz, L. Skrisovska, E. Belloc, J. Guillén-Boixet, R. Méndez y F. H. Allain, «A fly trap mechanism provides sequence-specific RNA recognition by CPEB proteins», en *Genes Dev*, vol. 28, 2014, pp. 1498-1514.

ÓSCAR FERNÁNDEZ-CAPETILLO

PELEANDO CONTRA EL CÁNCER Y EL ENVEJECIMIENTO

27

En su libro *Introducción a la Ciencia*, uno de los mejores divulgadores científicos de nuestra era, Isaac Asimov, hace la mejor definición de la ciencia que jamás haya encontrado. Este formidable libro inicia su primer capítulo definiendo la ciencia en sí misma: «¿Qué es la ciencia? Y, al principio, todo fue curiosidad». Y es en esa definición exactamente en la que encajo yo. Si bien es mi profesión, no me considero un bioquímico, ni un genético, ni un investigador en cáncer, sino simplemente una persona con una frustrante curiosidad por tratar de entender el mundo que nos rodea.

Nací en Bilbao un 4 de agosto de 1974, exactamente un año después de que mis padres contrajesen matrimonio. Como quedará patente en este escrito —y honestamente creo que es el caso—, y aunque la mayoría de las veces las biografías se tiendan a endulzar, mi vida no ha seguido una línea coherente, sino que se ha ido perfilando fortuitamente a partir de un puñado de eventos concretos que me han hecho virar bruscamente el timón. Soy un convencido de la teoría del «equilibrio puntuado» para explicar cómo se desarrollan nuestras vidas, similar a la propuesta de Niles Eldredge y Stephen Jay Gould en el contexto de la evolución. Poco antes de nacer yo, Niles y Stephen propusieron que la tasa de evolución no es constante, sino que se mantiene relativamente baja a través de periodos muy largos de tiempo y que es en intervalos muy cortos cuando un evento improbable (una catástrofe, un cambio drástico de temperatura, etcétera) genera una expansión y selección masiva de formas de vida de las que emerge un nuevo repertorio de seres vivos. Como verán, es fácil entender por qué tengo la impresión de que nuestras vidas también se desarrollan siguiendo el modelo de «equilibrio puntuado»; periodos de estabilidad que terminan abruptamente por eventos o decisiones más o menos fortuitas.

Aunque sea contradictorio viniendo de Bilbao, nací en el contexto de una familia humilde. Mi madre, Margarita Ruiz, había trabajado como taquígrafa pero, como era frecuente en aquellos tiempos, abandonó su profesión al nacer yo. Mi padre, Juan José Fernández-Capetillo, trabajaba entonces en la aduana para una empresa llamada Babcock and Wilcox que, como tantas otras, se hizo famosa posteriormente por prejubilar o despedir a sus empleados cuando la mano de obra española dejó de ser de las más baratas del mundo. Vivíamos en un pequeño piso en Astrabudua, una de las zonas más pobres de los alrededores de Bilbao, junto al Nervión, en los años en los que el agua de la ría era una emulsión de petróleo y metales pesados. Mi madre me cuenta que no teníamos ni para calefacción y que nos apañábamos con mantas y ropa gorda, aunque siempre he pensado que era en parte por adornar la historia. Y es aquí cuando llega el primer giro brusco en mi vida del que tengo consciencia. Nos toca la lotería de Navidad.

Supongo que todo el mundo se pregunta a quién —aparte de a Carlos Fabra— le ha tocado alguna vez el gordo de Navidad. Pues *ecce homo*. A mis padres la fortuna les sonrió con un

décimo de Navidad, lo que en 1978 fue suficiente como para mudarnos de casa, comprar un nuevo coche y, en lo que a mí respecta, cambiarme de colegio. Nos trasladamos a Ibarrekolanda, un barrio cercano a la Facultad de Económicas y Empresariales de la Universidad del País Vasco (UPV), aunque lo único que nunca me atrajo de esta facultad fueron sus jardines. Respecto al colegio me enviaron a Askartza Claret, una ikastola de los hermanos claretianos relativamente nueva por aquel entonces y a donde iban chavales «de bien». Mis padres pensaron que a lo mejor se me pegaría algo y que además me tendrían entretenido hasta las seis de la tarde, ya que volvía en autobús. Acertaron en ambas cosas.

Ya desde mis años escolares, era evidente que yo era un chico de ciencias. Tenía una media prácticamente constante de siete y medio durante toda mi etapa preuniversitaria. Fácil de explicar, diez en las asignaturas de ciencias y cinco en todo lo demás. La ciencia me divertía, era como un juego, y el resto me aburría soberanamente. Nunca he entendido la filosofía docente de convertir al estudiante en una biblioteca andante. Esta docencia no participativa es una de las razones por las que los médicos en España, a diferencia de en Estados Unidos, se centran principalmente en aplicar las curas ya conocidas más que en encontrar otras mejores. No se nos educa para cambiar el mundo, sino en recordar lo que otros ya han hecho. Memorizar sin comprender es absurdo, y no tiene mucha más utilidad que para impresionar en el Trivial o para sacar pecho en alguna comida, nada de lo que me interesa. Opiniones sobre el sistema educativo aparte, llegamos así hasta la selectividad, donde vuelvo a sacar un siete y medio exacto; premio a la regularidad.

La llegada al mundo universitario me encuentra aun desperezándome de la rutina escolar y sin tener especialmente claro lo que quería hacer. Sabía que había de ser algo relacionado con las ciencias, pero no exactamente el qué. Me inclinaba por la física, ya que uno de mis libros favoritos —y que aún me acompaña en el despacho del Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO)— es *Cosmos*, de Carl Sagan. Si bien me he dedicado profesionalmente a la biomedicina, eso no cambia que siga pensando que las preguntas realmente importantes no tienen que ver con saber cómo funcionamos los seres humanos, sino con la «gran» pregunta de por qué existe materia, energía y las leyes fundamentales que regulan sus interacciones. Vamos, que de qué va todo esto del universo en el que fortuitamente hemos asomado la cabeza por un breve espacio de tiempo. Y no, la respuesta Dios no me convence. Una idea no es válida solo por el hecho de que no se pueda refutar. Algunos vikingos pensaban que el mundo se sostenía sobre el caparazón de una gran tortuga. Evidentemente, ningún vikingo podía demostrar lo contrario. Soy capaz de vivir asumiendo que desconozco el sentido de todo sin tener que construirme una interpretación tranquilizadora.

Retornando a la época de selectividad, estaba relativamente convencido de hacer Físicas o alternativamente Matemáticas. Pensaba que no me iba a costar demasiado esfuerzo y además era la carrera que había hecho mi tío Carlos. Hermano de mi madre, es uno de los referentes principales de mi vida. Carlos era poco mayor que yo, y pasé con él gran parte de mi infancia y juventud. Se licenció en Matemáticas con notas extraordinarias. Sin embargo, una vez acabada la licenciatura, reflexiona sobre su futuro y se da cuenta de que la matemática no le llena, él tiene vocación de ayudar. Así que decide estudiar Psicología

para ayudar a los niños con problemas educativos, a lo que finalmente dedicó su vida. «*One in a million*», como dicen los americanos. Y doy fe que lo era. Eso, sumado a que compartíamos muchas facetas de nuestra personalidad, y que sistemáticamente me machacaba a juegos de lógica, hicieron de Carlos un referente que me acompaña hasta hoy. Mientras me debatía entre física y matemática, llega otro momento catastrófico en el que vuelve a virar el barco. En esos mismos meses pierdo a dos personas muy cercanas por cáncer. Soy además partícipe de todo el proceso final, viendo cómo agonizan. Digamos que he estado en el frente varias veces y conozco la cara del enemigo. Todo esto es muy traumático para mí, y me hace dar un nuevo bandazo. Decido estudiar Biología para curar el cáncer. Con matices, es a lo que me dedico a día de hoy. En cualquier caso, lo cierto es que no he llegado hasta aquí sin unas cuantas curvas más.

En la UPV, que estaba a unos 200 metros de mi colegio, las cosas cambiaron de manera predecible. El siete y medio se tradujo rápidamente en un diez de media, sacando matrícula de honor en todas las asignaturas de los tres primeros años. Pragmáticamente, esto se traducía en que la carrera me salía gratis, algo que yo valoraba, ya que desde que me fue posible siempre intenté ayudar a mis padres en lo financiero. Entre la gratuidad de estudios y que obtenía ingresos de las maneras más variopintas —desde jugando a balonmano en categoría nacional hasta recogiendo patatas—, no tuve que volver a pedir ayuda para cubrir mis propios gastos. En la universidad eran tiempos convulsos. Mi primera clase fue con un profesor de Química que se nos presentó diciendo que no reconocía el funcionariado español, y que por lo tanto no nos podía asegurar que sus notas valiesen para nada. Digno de Woody Allen, pero cierto. En fin, eran esos tiempos. Me abstengo en pronunciarme sobre lo que pienso sobre estas cosas. Creo que allá por 1936, Unamuno en el paraninfo de la Universidad de Salamanca dio una lección histórica sobre los «ismos» que acabó con su despido como rector. En cualquier caso, todavía a día de hoy el simple hecho de ser de Bilbao o hablar euskera me hace tener que definir mi posición sobre nacionalismos varios en demasiados sitios. Como siempre he sido un poco corrosivo, decidí firmar con «K», algo que perdura hasta hoy. No sé si me divierten más aquellos que me catalogan inmediatamente como nacionalista por firmar con «K» o los que asumen que soy del Opus Dei por tener cuatro hijos. Está claro que soy un genio del disfraz.

En la universidad, una vez acabado el primer ciclo, decidí coger la rama de Bioquímica, ya que parecía algo más cercana a mis intereses que la Biología General. Si comenzase otra vez de cero, sabiendo lo que sé ahora, me hubiese hecho químico orgánico. Nos espera una época dorada para el desarrollo de nuevas moléculas con propiedades biomédicas, y a mí me va a pillar con el pie cambiado. En la universidad trabé gran amistad con otro estudiante, Gontzal Cebas, anarquista ilustrado y gran conversador, que me hizo más llevadero el tedio de las clases magistrales. Lamentablemente, también perdí a Gontzal en quinto de carrera, al quitarse la vida tras entrar en una depresión bipolar. Fue entonces por primera vez cuando comprendí la naturaleza de las enfermedades mentales. Nada más frustrante que ver a alguien que quieres perder el norte y no poder hacer nada por él. Nunca volveré a cometer el error de trivializar sobre el origen de estas enfermedades. Sin nada más digno de mención de esos años, y una vez entrado en el quinto curso, tenía claro que era el momento de explorar otros mundos.

Ese año había entrado como alumno interno en el laboratorio de Ana María Zubiaga. Ana había llegado recientemente de hacer su posdoctorado en Harvard y hablaba de cosas como ratones mutantes, biología molecular del ARN y crecer linfocitos en una placa de cultivo, lo que por aquel entonces en la UPV sonaba a música celestial. Así que una breve conversación bastó para que Ana me convenciese para entrar como alumno interno. Sin embargo, yo quería realmente explorar otros mundos, y Ana ya me había enseñado lo suficiente como para saber que los grupos realmente buenos no estaban en mi universidad, sino en centros en el extranjero, y que debía buscarlos en las revistas más conocidas —por aquel entonces internet no era lo que es hoy—. Con Ana comparto el hecho de que me gusta toda la ciencia más allá de mi campo de especialización, y de ella me llevo leer el *Nature* o el *Science* más o menos semanalmente para mantener una visión panorámica sobre la ciencia que nos rodea. Así, mi primera estrategia para buscar un sitio donde doctorarme fue seleccionar artículos de estas revistas cuya temática me pareciese interesante y escribir directamente a los autores pidiéndoles cobijo. Esta táctica funcionó razonablemente bien y me llevó a visitar varios lugares, incluyendo el grupo del escocés David Tollervey, que trabajaba en la biología molecular del ARN y que finalmente me ofreció una beca. Mi visita a Tollervey en Edimburgo fue mi primer vuelo fuera de España. Aunque David era muy simpático, también tartamudeaba sensiblemente. Que un escocés tartamudo fuese la primera persona con la que hablaba inglés fuera de Bilbao me hizo replantearme si realmente lo que yo había aprendido en el colegio era inglés. En la conversación que tuvimos desde el aeropuerto al hotel únicamente conseguí identificar unas pocas palabras sueltas con las que me construí todas las alternativas posibles: «iríamos al laboratorio y después a cenar en el hotel», «la gente del laboratorio me esperaba en el hotel para ir a cenar», «ese día no íbamos a cenar, por lo que me quería enseñar el laboratorio camino del hotel»... En fin, me sentí como un emigrante recién llegado a Ellis Island, pero ahora lo recuerdo con una sonrisa.

Al mismo tiempo, y tras el proceso selectivo más exigente con el que me he encontrado en mi vida, también obtuve la posibilidad de doctorarme en el European Molecular Biology Laboratory (EMBL) de Heidelberg, la joya de la corona europea en biología molecular. Sin embargo, en el EMBL no iba a hacer biología molecular, sino ¡desarrollo de instrumentos! Esta afición por la electrónica y por los «aparatejos» se la debía a mi abuelo, que sin ninguna formación era capaz de arreglar todos los aparatos electrónicos que caían en sus manos —algo que a mí me fascinaba—. En el EMBL iba a doctorarme bajo la tutela de Wilhelm Ansorge, lo que solo tiempo después supe por sus conocidos que hubiese sido una muy mala decisión para mí. La fortuna me sonrió de una manera inesperada.

Por aquellos años yo era una persona bastante desenfrenada fuera de la universidad y, por no extenderme en los detalles, dejémoslo en que no llevaba muy buen camino si no hubiese sido por otro accidente que cambió mi vida. La primera doctoranda de Ana Zubiaga se llamaba Matilde Murga, una estudiante recatada un par de años mayor que yo y que venía de la Universidad de Navarra. Aunque Matilde y yo procedíamos de mundos antagónicos, para mí inmediatamente tuvo un atractivo brutal. Por suerte, también se dio el efecto contrario, y a no mucho tardar empezamos a salir juntos. Sin embargo, yo acababa mis estudios universitarios ese mismo año y ya estaba preparado para irme al EMBL a construir instrumentos. Una vez más, volvió a pasar algo inesperado. En agosto me acerqué a Bilbao

para disfrutar de unos días de Semana Grande. Cuál fue mi sorpresa cuando al llegar a casa encuentro una carta del Gobierno vasco por la que me habían concedido una beca para realizar mis estudios de doctorado en la propia UPV. Esto me pilló completamente por sorpresa, ya que yo no había solicitado ninguna beca. Al hablar con Mati se resuelve el misterio. Ella había solicitado la beca por mí. Entonces ella tenía una situación familiar muy complicada que le impedía irse de Bilbao. Me propuso un trato. Si nos quedábamos en la UPV para hacer el doctorado, ella después me seguiría adonde fuese para hacer el posdoctorado. Dudé unas pocas centésimas de segundo. Los aparatos y Alemania podían esperar. Estaba enamorado hasta la médula.

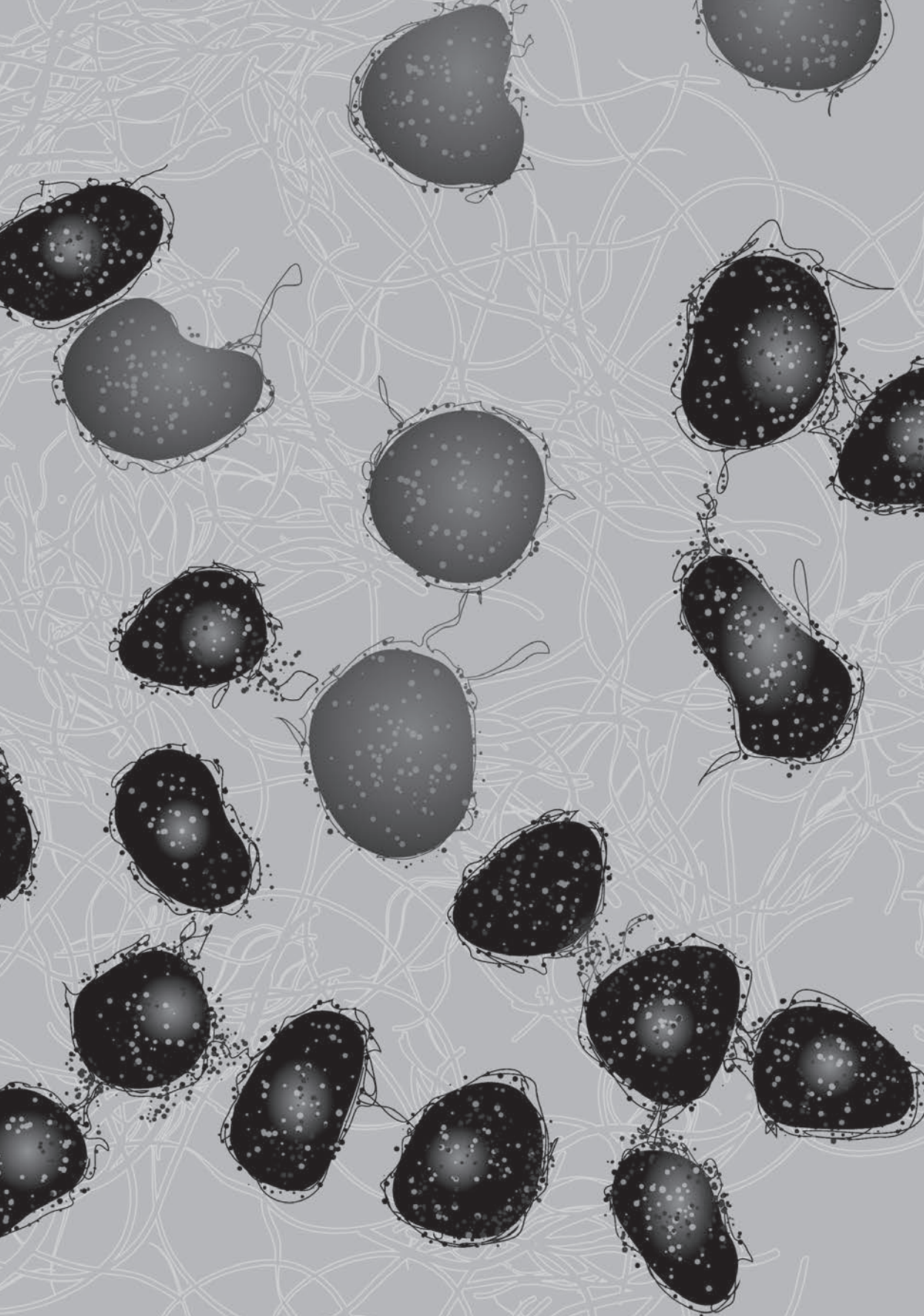
En la UPV empezamos literalmente de cero. Ana traía mucha energía y pasión por la ciencia que supo transmitirme. Mucho del científico que hoy soy se lo debo a esos años. Empezamos en un laboratorio vacío y parte del primer año lo dedicamos a implementar el laboratorio. Algunas técnicas, como los cultivos celulares, las teníamos que hacer en otro edificio de la universidad. Y para otras técnicas teníamos que desplazarnos hasta Santander o Madrid. Los viajes a Madrid fueron particularmente heroicos. Nos despertábamos a las cuatro de la mañana para subir a la UPV y coger unos cuantos ratones. Los poníamos en una caja camuflada y bajábamos a Bilbao a subirnos al primer autobús que salía para Madrid —la caja había que camuflarla, puesto que no estaba permitido llevar animales—. Al llegar a Madrid cogíamos un autobús y un tren de cercanías para finalmente llegar al Centro Nacional de Biotecnología (CNB), centro líder de biomedicina en la España de finales del siglo XX. Allí sacrificábamos a los animales y corríamos de un lado a otro hasta analizar su sistema inmune con todos los instrumentos que podíamos. Acabábamos a las once de la noche para salir corriendo y coger el último autobús a Bilbao a la una de la madrugada. Claramente, eran otros tiempos. Mis visitas al CNB tuvieron un efecto colateral añadido. La cercanía con los grupos jóvenes de Manuel Serrano o María Blasco, o con otros más consolidados, como el del recién llegado Mariano Barbacid, me habían impresionado. Aunque solo años después volveríamos a cruzarnos, esos días fueron determinantes. Había decidido qué tipo de científico quería ser.

Mi trabajo de doctorado empezó centrado en el análisis de la estabilidad del ARN mensajero (ARNm), un tema en el que Ana Zubiaga había trabajado en Harvard. Si bien fue frustrante porque era un proyecto muy metódico y que no me dejaba espacio para la exploración, lo cierto es que me curtió en técnicas de biología molecular en la época previa a los «kits». Esto me dotó del conocimiento necesario para saber cómo refinar un protocolo cuando las cosas no funcionan, algo que se está perdiendo entre nuestros doctorandos. Como dicen mis estudiantes, sigo siendo el rey del *cloning*. Esta faceta mía tiene su origen en aquellos años. Sin embargo, el proyecto del ARN no me llenaba especialmente, y empecé a colaborar con Mati en otro que era mucho más entretenido: la caracterización de ratones mutantes para unos genes involucrados en la biología del ciclo celular. Además, potencialmente este trabajo estaba relacionado con el cáncer, que es hacia donde yo quería ir. Nuestra investigación acabó con el descubrimiento de uno de los primeros genes supresores de autoinmunidad y revelando la existencia de factores de transcripción de la familia E2F que funcionaban como represores. Años después, grupos de Boston redescubrieron este fenómeno de E2F represores y lo publicaron en *Nature* como invención propia. En fin,

claroscuros de este negocio. Resulta difícil que un artículo basado en los resultados de dos jóvenes estudiantes de Leioa y sus peripecias en autobús pueda tener la repercusión de toda la maquinaria de presión bostoniana. No obstante, el trabajo fue publicado en la revista *Immunity*, la principal revista de inmunología entonces. Teniendo en cuenta el contexto de la UPV y desde dónde partimos, aún me asombro de cómo conseguimos hacerlo. Posteriormente hubo muchos más artículos, y más que espero que lleguen, pero difícilmente alguno jamás tenga el valor que tiene este para mí.

A pesar del éxito de este proyecto, esos años en la UPV me habían desgastado bastante. El proyecto del ARN hizo bastante mella y me hizo tener muchas dudas sobre si realmente yo quería trabajar en ciencia. Mi naturaleza inquieta me hizo explorar otras alternativas. Por un lado, los ordenadores siempre me habían gustado y, sin demasiada reflexión, llegué a la conclusión de que quería entender cómo funcionaban, comprender el proceso por el cual una máquina es capaz de procesar una orden tan simple como dos más dos. Así que me apunté a estudiar Ingeniería Técnica en Informática de Sistemas por la Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED). Esto me tuvo entretenido muchas noches y la verdad es que lo disfruté bastante. Me revitalizó. Aprendí sobre electrónica digital, programación y muchas otras cosas sobre las que siempre había tenido debilidad. Sin embargo, la magia de los ordenadores se terminó con el segundo curso de Arquitectura de Computadores. Una vez entendido el secreto de cómo funcionaba la caja mágica, el resto de la informática me aburría más que la biomedicina. En cualquier caso, esta excursión al mundo de la informática fue esencial para mantener despierta mi curiosidad esos años. De esta actividad derivó que en mi propia tesis programé un *software* para el análisis de *microarrays* de expresión, que por aquel entonces se hacían mediante membranas de nailon. El código fuente de este programa estaba anexo a mi tesis y, curiosamente, centró la discusión de mi defensa doctoral. Para los miembros del tribunal un bioquímico que sabía programar era como un mono con pistolas, rara avis. No fue la última vez que saber programar me ha ayudado en mi trabajo.

Además de la informática, esos años también divagué por los mundos de la bolsa. La época de 1995 a 2000 era la de los primeros *newsgroups* y la curiosidad me llevó a pasar las noches leyendo lo que entonces era el único grupo de discusión sobre bolsa en España. En un principio, la bolsa me pareció un pasatiempo divertido. Había un *software* llamado MetaStock al que, con un poco de pericia, se le podían introducir las series históricas de los valores bursátiles. El *software* estaba repleto de herramientas estadísticas que, con algo de tino, uno podía aprovechar. Eran los primeros días de la combinación internet-bolsa, y no era complicado explotar la información disponible para hacer dinero. Empecé a invertir mis ahorros y el maná empezó a brotar. Eran buenos tiempos, y la verdad es que las cosas me iban realmente bien. Había diseñado un sistema más o menos refinado que me permitía operar en valores estrechos «intradía» y salir airoso. Cuando la cosa empezó a ir bien, adopté un seudónimo y empecé a hacer de gurú en el *newsgroup*. Cualquiera hubiese dicho que era un economista cincuentón curtido en gestionar carteras, y no un simple estudiante de Bioquímica enchufado a un Pentium entre experimento y bocadillo. A tanto llegó el caso que acabé siendo contratado como asesor por una gestoría de Zaragoza, llegando a ganar más por esta actividad que por mi propia beca —lo que no era muy difícil aquellos días—. Recuerdo que, además, durante unos meses estuve incluso invirtiendo los ahorros



de algunos de los profesores de nuestro departamento. Echando la vista atrás, la verdad es que era todo un descontrol. Pero fue divertido. Sin embargo, al igual que me pasó con la informática, de la bolsa también me aburrí repentinamente. Era simplemente un juego, un pasatiempo. Hacer dinero por dinero no me llenaba en absoluto.

Entre ratones autoinmunes, ordenadores y cotizaciones llega el momento de volver a tomar una decisión. La mía estaba más o menos tomada y no estaba directamente relacionada con la investigación. Sin embargo, es Mati la que esta vez me empuja hacia delante. Ella estaba decidida a hacer un posdoctorado en Estados Unidos y me arrastra. Me pide que lo intente una vez más y que, si no funciona, lo deje. Recién casados, no me queda otra que confiar en que tiene razón. Ella había seleccionado un grupo de Boston, pero antes de incorporarse, su grupo se mueve a los Institutos Nacionales de la Salud (NIH) en Bethesda, cerca de Washington. Así que me toca explorar grupos potenciales con los que me podría gustar trabajar en el NIH. Sin saber bien cómo elegir grupo, vuelvo a repetir mi estrategia original. Elijo grupos del NIH que publican artículos que me parecen creativos y les escribo a todos. Para mi sorpresa, a muchos parece que les caigo en gracia, así que organizo un viaje a «América» para entrevistarme con algunos de ellos. Una de las entrevistas es con André Nussenzweig en el National Cancer Institute (NCI), que lideraba un pequeño grupo de reciente creación que trabajaba en inestabilidad genómica y que había desarrollado una técnica para visualizar los cromosomas rotos, fascinante. Además, por fin, André trabajaba en cáncer, que es adonde yo siempre había querido llegar. En cualquier caso, la química personal fue determinante —como casi siempre lo ha sido en mis decisiones—. André me pareció un tipo inteligente y simpático y, aunque no sabía cómo, sentía que trabajar con él iba a ser bueno para mí. Ciertamente acerté.

Los años en Estados Unidos (2001-2004) son determinantes para mi futuro como científico. André es físico de formación —incluso doctoral y posdoctoral—, y tiene una capacidad enorme para saber identificar las preguntas realmente relevantes y abstraerse de los detalles superfluos. Eso me ayuda a centrarme en proyectos interesantes y es, sin duda, lo más importante que aprendo de él. Además, por primera vez, ¡tenía financiación e instrumentos en abundancia!, por lo que podía pasarme en el laboratorio el tiempo que quisiera y haciendo todos los experimentos que me diese la gana. Doy fe que lo hice. En esos años mis investigaciones se centraron en entender el papel que desempeñaban las histonas, proteínas empaquetadoras del ADN, en detectar y señalizar roturas cromosómicas. Teniendo en cuenta que el daño en el ADN está involucrado en el desarrollo de tumores, era un área directamente relacionada con mis intereses originales. Aprieto los dientes y de ese periodo consigo sacar un gran número de artículos en revistas de prestigio. Soy invitado además a dar charlas, donde me empiezo a dar a conocer. Las cosas empiezan a ir viento en popa, disfruto de la investigación y, por primera vez, empiezo a creer que mi futuro estará ligado a la biomedicina.

Mis investigaciones posdoctorales en el NCI se enfocan principalmente en comprender el papel que una histona, H2AX, tiene en el mantenimiento de la estabilidad del genoma. Poco antes de llegar yo, Bill Bonner, un vecino del NCI, había descubierto que esta histona se fosforilaba en respuesta a agentes que dañaban el ADN. Cómo Bill Bonner y su hermano Bob fueron capaces de demostrar que la fosforilación de H2AX ocurría exactamente en los

extremos rotos de un cromosoma es digno de su propio relato. En lo que a mí respecta, a primera vista me pareció interesante tratar de entender cómo una proteína supuestamente involucrada en el empaquetamiento del ADN podría estar implicada en su reparación. Entre otras cuestiones, descubrí que H2AX regulaba cosas tan dispares como una nueva ruta de señalización en respuesta a la radiación, el apareamiento de los cromosomas sexuales durante la gametogénesis o la coordinación de movimientos teloméricos. Además, descubro una nueva fosforilación de otra histona, H2B, en respuesta a daño en el ADN, lo que certifica la idea de que las histonas están activamente involucradas en proteger el genoma. Todos estos trabajos ponen de manifiesto una relación activa entre la cromatina y la estabilidad del genoma que todavía a día de hoy es un campo muy activo de investigación. Yo por mi parte estaba feliz, sentía que era capaz de hacer ciencia competitiva y quería más. Pero la investigación con ratones tiene tiempos de espera demasiado largos y los estudios genéticos se me hacían eternos. Lo tengo decidido, quiero hacer otro posdoctorado para aprender experimentación genética en levadura. No hay otro modelo más rápido para hacer estudios genéticos. Como supongo que ya pueden imaginar, una vez más Mati tenía otra opción más sensata.

Aunque ahora parezcan lejanos, 2003 en España eran buenos tiempos. Los posdoctorandos en el extranjero estaban ilusionados por la apertura de un nuevo tipo de contratos llamados «Ramón y Cajal», que prometían traer a España el modelo de *tenure-track* anglosajón. Ilusos. Además, era la época en la que cada región construía su propio centro de investigación, no porque hubiese una filia especial por esta, sino porque lo importante era construir. Bienvenido era, en cualquier caso. Siendo esta la coyuntura y habiendo sido padres recientemente, Mati decide con buen tino que es momento de volver a España. Solicitamos la «Ramón y Cajal» y empezamos a explorar opciones para regresar. Se nos abren las puertas de varios sitios, incluyendo el CNB, pero los investigadores que yo admiraba del CNB se estaban marchando a un nuevo centro: el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO) que iba a dirigir nada más y nada menos que Mariano Barbacid. Y entonces la fortuna me sonrió en un correo electrónico de Manuel Serrano, invitándome a aplicar en el CNIO un programa de incorporación de grupos jóvenes. Manolo me conocía, ya que yo había hecho una breve estancia en su laboratorio durante mi tesis. Lo que yo no podía imaginar —ahora que lo conozco, sí— es que me había seguido la pista en el NCI. Me comentó que María Blasco iba a dirigir un nuevo programa en el CNIO donde iban a estar algunos de los primeros espadas nacionales de investigación biomédica, incluido él, María Blasco, Mariano Barbacid o Ángel Nebreda. Me sentí abrumado, la verdad, era demasiado bueno para ser cierto. Me dediqué a esta convocatoria y, después de un proceso de selección que recuerdo con mucha ilusión, obtuve la plaza para ser jefe de grupo júnior en el Programa de Oncología Molecular dirigido por María. Sin embargo, no íbamos a llegar al CNIO sin un par de curvas más.

En el CNIO, la oportunidad de dirigir un grupo era solo para mí y no para Mati. Así que, aunque halagado, dijimos que no a María y decidimos buscar otras opciones —recuerdo vivamente lo que me costó darle al botón de «Enviar» en ese correo electrónico—. Pero bueno, nobleza obligaba. Bilbao también había construido su propio centro, el CIC-Biogune, que obviamente hubiese sido lo más fácil para nosotros, pero en la entrevista con el director no me quedó del todo claro si realmente nuestra ciencia encajaba allí. La otra oportunidad se

nos abrió en Valencia. Estaban construyendo un centro precioso al lado de la Ciudad de las Artes y las Ciencias, el Centro de Investigaciones Príncipe Felipe (CIPF). Valencia era una ciudad costera, con buen clima, y mi despacho iba a dar a un delfinario. Mati también dirigiría un grupo de células madre. ¿Se podía pedir más? Hasta que conocimos a su director, Rubén Moreno, que había sido designado por el Gobierno valenciano para dirigir el CIPF por razones no estrictamente científicas. En nuestras interacciones con él empezaron a aparecer aristas en su discurso, y parecía evidente que no tenía idea alguna de dirigir un centro competitivo. La política —no científica— marcaba las pautas del CIPF. Nuestra aventura valenciana acabó una mañana al despertarnos en Estados Unidos viendo el nombre de Matilde en la portada electrónica de *El Diario de Levante*. Habían utilizado su nombre para argumentar que no traían a Bernat Soria al CIPF porque iban a traer a Matilde, experta mundial en células madre. En fin, no era este un lodazal en el que queríamos participar. Ese mismo día Mati me dijo que, visto lo visto, teníamos que irnos al CNIO. Los otros centros que habíamos explorado no nos daban confianza, y el CNIO tenía toda la pinta de que iba a funcionar muy bien. Nunca podré agradecer lo suficiente ese gesto. Ella rechazaba voluntariamente su propia oportunidad de iniciar un grupo. Por primera vez era yo quien decidía dónde íbamos a trabajar.

En noviembre de 2004, Mati y yo aterrizamos en el CNIO para abrir el grupo júnior de Inestabilidad Genómica. Yo acababa de cumplir treinta años, por lo que a lo de júnior no le sobraba una sola letra. Los primeros años del laboratorio en el CNIO los recuerdo como una de las mejores épocas que he vivido en ciencia. Como ya nos pasó en la UPV, tocaba volver a empezar un laboratorio desde cero, solo que esta vez ya nos sabíamos la rutina. Tener a Mati en el grupo fue esencial para que pronto estuviésemos trabajando a buen ritmo. Ella siempre ha tenido mucho talento con los experimentos y me ayudó a instruir a los primeros becarios y posdoctorandos. Siendo riguroso, en lo que se refiere a experimentación, principalmente los entrenó ella. Esto me permitió centrarme en pensar proyectos interesantes, viajar, conocer grupos afines y en tratar de obtener financiación en todos los sitios que pude. Gracias a que teníamos una plaza flexible financiada por el CNIO, pudimos utilizarla como plataforma de llegada para los primeros estudiantes. Una vez que los estudiantes conseguían su propia beca, volvíamos a disponer de la plaza CNIO y repetíamos el proceso. Así, en poco menos de un año ya éramos seis personas. En lo que se refiere a la selección de personal para mi laboratorio, siempre trato de que cumplan dos requisitos mínimos: que les guste la ciencia más allá de la biomedicina y que sean simpáticos y buena gente. Siempre he procurado que mi laboratorio sea un entorno agradable de trabajo. Creo firmemente que la gente feliz es más productiva. No entiendo a los laboratorios gestionados como cadenas de producción. Los descubrimientos realmente importantes no se hacen por fuerza bruta. De hecho, mi filosofía de vida es similar a la del laboratorio. Me gusta estar rodeado de gente optimista y agradable, al tiempo que trato de evitar egos y a divas varios que no son capaces de hacer un comentario constructivo ni a un estudiante que empieza. Por desgracia, el segundo grupo tiene representantes notorios en nuestro entorno académico. Y aunque me divierte pelearme con ellos y dejar claro que el traje del emperador es transparente, en general trato de esquivarlos. ¡Cuánto Newton nos rodea!

En los primeros años del laboratorio empezamos a centrar nuestras investigaciones en preguntas muy elementales de nuestro campo: ¿cómo influye la compactación del ADN en el

reconocimiento de lesiones genómicas?, ¿podríamos diseñar algún truco mediante el cual seamos capaces de activar la maquinaria de respuesta a daño en el ADN, pero sin la existencia de este? o ¿existe comunicación entre las diferentes rutas de señalización de daño en el ADN? Estas y otras contribuciones las fuimos publicando en revistas sólidas, y nuestra manera de pensar y trabajar empezó a recibir el reconocimiento de nuestros colegas. En los primeros años, traté además de ser muy activo en participar en redes nacionales e internacionales de investigación, explicando nuestro trabajo en todos los foros posibles. Sin embargo, es un trabajo de Mati el que realmente nos abre las puertas de una de las líneas de investigación más fructíferas que hemos tenido hasta la fecha. Su primer proyecto se centra en generar un modelo de ratón de una enfermedad humana llamada síndrome de Seckel. El grupo de Penny Jeggo en Sussex había caracterizado la mutación en los pacientes y pensamos que podríamos utilizar esa información para generar un modelo animal de la enfermedad. El síndrome tenía su base molecular en una mutación que disminuía los niveles de la proteína ATR. Esta proteína era la primera responsable de activar la maquinaria celular de protección contra un tipo de daño en el ADN conocido como estrés replicativo (ER). Así, tanto los pacientes como los ratones que generamos tenían niveles reducidos de ATR y sufrían cantidades elevadas de ER. Los ratones del síndrome de Seckel generados por Mati recapitulaban todos los rasgos clínicos de la enfermedad y, lo más importante, eran resistentes al cáncer. Esto nos hace empezar a pensar que inhibir la actividad de ATR puede ser especialmente tóxico para las células cancerosas, aunque en aquel momento no creíamos que desde un pequeño grupo de investigación íbamos a conseguir desarrollar moléculas inhibidoras de ATR para quimioterapia. Sin embargo, se nos abrió una oportunidad y la aprovechamos.

El CNIO había creado un departamento de desarrollo de nuevas terapias que incluía a químicos médicos y librerías de compuestos para el rastreo de nuevos fármacos. Al mismo tiempo, un estudiante de mi laboratorio, Luis Toledo, había desarrollado un sistema para activar a ATR en células en cultivo. En ese momento veo que, si el programa de terapias nos provee de compuestos y decide colaborar con nosotros, quizá exista la posibilidad de ser competitivos en el desarrollo de estos fármacos. Sabemos que hay competencia por parte de grandes farmacéuticas como AstraZeneca, pero nuestra plataforma de ensayo nos puede dar una ventaja sustancial. Tras unas primeras dudas, el programa de terapias decide ayudarnos, y conseguimos desarrollar compuestos inhibidores de ATR que muestran propiedades antitumorales en células en cultivo. Es el año 2011. En los siguientes dos años nos centramos en mejorar estos compuestos hasta el punto en el cual sean moléculas que se puedan administrar por vía oral y ser capaces de curar algunos tumores en ratones. En un par de años más este trabajo está hecho y es el momento de llamar a las puertas de las grandes farmacéuticas. El CNIO no puede asumir los costes de los ensayos clínicos y, si queremos llevar estos compuestos hasta los pacientes, no nos queda otra opción que conseguir atraer el interés de alguna empresa dispuesta a invertir en el proyecto para llevarlo a la clínica. En diciembre de 2013 los compuestos son licenciados finalmente a la empresa alemana Merck, en una de las licencias por compuestos antitumorales más grandes jamás realizada en España desde un entorno académico. A día de hoy, nuestro grupo sigue colaborando activamente con Merck con objeto de participar en el desarrollo clínico de estos compuestos y definir los pacientes que se beneficiarían de estos. Si bien esta parte de

nuestras investigaciones no es la que demanda más creatividad, huelga decir que es una de las que más me llena. En mis años en el CNIO he perdido también a mi padre y a mi tío Carlos, ambos de cáncer, y ambos demasiado jóvenes. Todo esto le añade cierto sentido del deber a lo que hacemos. Hace muchos años que decidí formarme para tratar de encontrar formas de curar el cáncer y, si bien he dado muchas vueltas, a partir de ahora no voy a aproar ni un grado.

Si bien en los últimos cinco años nuestro trabajo ha estado centrado en el estrés replicativo y es donde hemos obtenido reconocimiento, no soy persona que busque cobijo en el éxito. Como me pasó con los ordenadores o con la bolsa, una vez que comprendo algo, me empieza a aburrir. Así, mi naturaleza hace que esté perdiendo mis noches en estudiar química orgánica y que poco a poco en el laboratorio estemos derivando hacia otras áreas de investigación: cáncer, envejecimiento, pluripotencia, células haploides, mecanismos de resistencia a la radiación, desarrollo de fármacos, etcétera, son un breve listado de las actividades en las que estamos ocupados a día de hoy. Y por fortuna con uno de los grupos humanos más competentes y agradables que he tenido hasta ahora. Todo lo bueno que me ha pasado se lo debo a la gente que ha pasado por mi laboratorio. A su esfuerzo y buen hacer. Nada me llena más que sentir la gratitud de los que trabajaron conmigo, ni nada me frustra más que no ser capaz de sacar a alguien adelante. Aunque nos estemos marchando del calor del estrés replicativo, tengo la confianza de que nos espera un futuro de descubrimientos interesantes por delante. «No tengas prisa, no te detengas», dijo Saramago en una de mis frases favoritas. Y en eso estamos.

En estos ya casi diez años desde que volvimos a España han pasado muchas cosas en mi vida fuera del CNIO, pero ninguna tan digna de mención como el nacimiento de mis tres hijos menores: Emma (nueve), Luca (siete) y el pequeño Marco (dos). Junto con Ian (once) forman un ejército de cariño que seguramente me ha evitado unas cuantas depresiones típicas de mi edad. Me fascina que, si bien a todos los hemos educado igual, son completamente diferentes. En cualquier caso, tienen un denominador común, son buena gente, y con eso me vale. Espero saber transmitirles la curiosidad que me mueve y el valor de tratar de mejorar el mundo que nos rodea. Y si bien es cierto que aún es demasiado pronto para saber hacia dónde les llevará la corriente y seguramente sus vidas también se perfilen a golpes de azar, al menos una cosa puedo decir: les fascina *Cosmos*.

Publicaciones

S. Ruiz y O. Fernández-Capetillo, «The maternal side of Fanconi Anemia», en *Mol Cell*, vol. 55, 2014, pp. 803-804.

J. H. Barlow, R. B. Faryabi, E. Callen, N. Wong, A. Malhowski, H. T. Chen, G. Gutiérrez-Cruz, H. W. Sun, P. McKinnon, G. Wright *et al.*, «Identification of early replicating fragile sites that contribute to genome instability», en *Cell*, vol. 152, 2013, pp. 620-632.

E. Callen, M. di Virgilio, M. J. Kruhlak, M. Nieto-Soler, N. Wong, H. T. Chen, R. B. Faryabi, F. Polato, M. Santos, L. M. Starnes *et al.*, «53BP1 mediates productive and mutagenic DNA repair through distinct phosphoprotein interactions», en *Cell*, vol. 153, 2013, pp. 1266-1280.

O. Fernández-Capetillo y A. Nussenzweig, «Naked replication forks break apRPArt», en *Cell*, vol. 155, 2013, pp. 979-980.

A. J. López-Contreras, I. Ruppen, M. Nieto-Soler, M. Murga, S. Rodríguez-Acebes, S. Remeseiro, S. Rodrigo-Pérez, A. M. Rojas, J. Méndez, J. Muñoz *et al.*, «A proteomic characterization of factors enriched at nascent DNA molecules», en *Cell Rep*, vol. 3, 2013, pp. 1105-1116.

A. J. López-Contreras, P. Gutiérrez-Martínez, J. Specks, S. Rodrigo-Pérez y O. Fernández-Capetillo, «An extra allele of Chk1 limits oncogene-induced replicative stress and promotes transformation», en *J Exp Med*, vol. 209, 2012, pp. 455-461.

M. Murga, S. Campaner, A. J. López-Contreras, L. I. Toledo, R. Soria, M. F. Montana, L. d'Artista, T. Schleker, C. Guerra, E. García *et al.*, «Exploiting oncogene-induced replicative stress for the selective killing of Myc-driven tumors», en *Nat Struct Mol Biol*, vol. 18, 2011, 1331-1335.

L. I. Toledo, M. Murga, R. Zur, R. Soria, A. Rodríguez, S. Martínez, J. Oyarzabal, J. Pastor, J. R. Bischoff y O. Fernández-Capetillo, «A cell-based screen identifies ATR inhibitors with synthetic lethal properties for cancer-associated mutations», en *Nat Struct Mol Biol*, vol. 18, 2011, pp. 721-727.

S. F. Bunting, E. Callen, N. Wong, H. T. Chen, F. Polato, A. Gunn, A. Bothmer, N. Feldhahn, O. Fernández-Capetillo, L. Cao *et al.*, «53BP1 inhibits homologous recombination in Brca1-deficient cells by blocking resection of DNA breaks», en *Cell*, vol. 141, 2010, pp. 243-254.

O. Fernández-Capetillo, «Intrauterine programming of ageing», en *EMBO Rep*, vol. 11, 2010, pp. 32-36.

R. M. Marión, K. Strati, H. Li, M. Murga, R. Blanco, S. Ortega, O. Fernández-Capetillo, M. Serrano y M. A. Blasco, «A p53-mediated DNA damage response limits reprogramming to ensure iPS cell genomic integrity», en *Nature*, vol. 460, 2009, pp. 1149-1153.

M. Murga, S. Bunting, M. F. Montana, R. Soria, F. Mulero, M. Canamero, Y. Lee, P. J. McKinnon, A. Nussenzweig y O. Fernández-Capetillo, «A mouse model of ATR-Seckel shows embryonic replicative stress and accelerated aging», en *Nat Genet*, vol. 41, 2009, pp. 891-898.

O. Fernández-Capetillo y A. Nussenzweig, «ATM breaks into heterochromatin», en *Mol Cell*, vol. 31, 2008, pp. 303-304.

L. I. Toledo, M. Murga, P. Gutiérrez-Martínez, R. Soria y O. Fernandez-Capetillo, «ATR signaling can drive cells into senescence in the absence of DNA breaks», en *Genes Dev*, vol. 22, 2008, pp. 297-302.

M. Murga, I. Jaco, Y. Fan, R. Soria, B. Martínez-Pastor, M. Cuadrado, S. M. Yang, M. A. Blasco, A. I. Skoultchi y O. Fernández-Capetillo, «Global chromatin compaction limits the strength of the DNA damage response», en *J Cell Biol*, vol. 178, 2007, pp. 1101-1108.

M. Cuadrado, B. Martínez-Pastor, M. Murga, L. I. Toledo, P. Gutiérrez-Martínez, E. López y O. Fernández-Capetillo, «ATM regulates ATR chromatin loading in response to DNA double-strand breaks», en *J Exp Med*, vol. 203, 2006, pp. 297-303.

O. Fernández-Capetillo, C. D. Allis y A. Nussenzweig, «Phosphorylation of histone H2B at DNA double-strand breaks», en *J Exp Med*, vol. 199, 2004, pp. 1671-1677.

ISABEL FARIÑAS

MI VIAJE PERSONAL POR LA NEUROCIENCIA

28

Mi vocación de investigadora, como la de muchos de nosotros, fue muy temprana, pero se consolidó finalmente, para no ceder, cuando una asignatura de Biología y un profesor motivado y dinámico me hicieron saber que eso era a lo que querría dedicar mi vida. A pesar de no saber exactamente en qué consistiría mi profesión, mi familia no cuestionó mi temprana decisión. Para aquella generación de padres que crecieron en la posguerra, para muchos de los cuales la educación superior había sido sencillamente un imposible, no importaba a lo que te dedicaras, si lo hacías con entrega y honestidad. Mis padres, dos gallegos que emigraron a Barcelona, se conocieron y formaron una familia catalana de esas que no lo son, y siempre consideraron que su mejor legado sería nuestra formación y que todos sus esfuerzos estarían bien empleados si ese era el fruto. Pero mi familia sufrió un importante golpe con la enfermedad incapacitante de mi padre cuando yo acababa mis estudios de secundaria, y pensé que quizá debía buscar trabajo y ayudar en casa. Fue un verano difícil, intentando buscar sin éxito esa ocupación a tiempo parcial que me permitiese también estudiar y pagarme la matrícula de la universidad. Nunca olvidaré cuando un compañero de instituto me comentó que mi matrícula de honor de bachillerato me eximía de abonar la matriculación del primer curso de universidad. La exención del pago de la matrícula universitaria, un apoyo familiar incondicional, incluso en los malos momentos, y mis trabajos esporádicos durante los años siguientes hicieron posible mi licenciatura en Ciencias Biológicas por la Universidad Autónoma de Barcelona (UAB) en 1985, la primera licenciatura de mi familia.

Para explicar mi verdadera formación y vocación de esos años hay que destacar dos aspectos de mi vida universitaria. Uno de ellos fue mi interacción con tres compañeros de carrera, inflamados por la misma vocación científica, con los que estudiaba. Con ellos preparaba los temas de clase, con ellos descubrí alelada la biblioteca del Instituto de Biología Fundamental de la UAB, donde aprendimos lo que eran las revistas científicas, los artículos originales y donde queríamos leérnoslo todo. Con ellos compartí la búsqueda de laboratorio para colaborar y la tesina para obtener el grado de licenciado, seminarios y conferencias a las que asistir, trabajos de clase en los que nos superábamos por pura pasión y muchas risas y discusiones. De ese grupo salieron cuatro científicos de carrera y mi compañero personal, Ignacio Marín, al que sigo unida. El otro aspecto a resaltar es que mi inquietud por investigar me llevó a pedir y conseguir que me aceptaran para colaborar en el Departamento de Biología Celular y Fisiología, en un grupo que trabajaba en neurociencia. Allí coincidí con jóvenes investigadores que realizaban sus tesis doctorales, que iban al campo a cazar lagartijas para sus experimentos, que asistían, y me llevaban, a algún congreso científico y que pasaban todo el día en el laboratorio. Yo me contagiaba y compaginaba las clases y el estudio con el trabajo en el laboratorio, muchas veces al mediodía, mientras los demás comían, entre las clases de teoría y las prácticas de laboratorio vespertinas. Y me fui formando en microscopia electrónica y en neurobiología.

El año en el que cursaba cuarto se conmemoró el cincuentenario del fallecimiento de Santiago Ramón y Cajal con un simposio internacional sobre Neurociencia en Madrid, al cual asistí con varias personas del laboratorio. Algunos científicos de los que leía trabajos estaban allí, y nunca olvidaré la impresión que me causaron algunos de ellos. Coincidí, además, con otros jóvenes científicos de España y del extranjero que me enseñaron que la comunidad científica es muy amplia e internacional. Quizá esa impronta juvenil ha hecho que nunca abandonara el campo de las neurociencias. O quizá es que, como una vez alguien me hizo ver, científicamente hablando, soy tataranieta de Cajal. Fue en ese mismo congreso donde Alfonso Fairén, en aquel momento investigador del Instituto Cajal del CSIC en Madrid, gran experto en corteza cerebral y aún hoy respetado y apreciado amigo, me propuso trasladarme a Madrid para hacer mi trabajo de tesis doctoral con Javier de Felipe, que volvía de realizar una estancia posdoctoral en Estados Unidos. Al año siguiente acabé la carrera, defendí mi tesina sobre la caracterización con microscopia electrónica del bulbo olfatorio en la lagartija y me preparé para irme a Madrid con una beca predoctoral del Ministerio de Educación y Ciencia, abandonando por un tiempo incluso a Ignacio.

Mi director de tesis era, y es, un eminente especialista en corteza cerebral. Sencillo de trato y campechanamente bueno, es un científico polifacético donde los haya, con múltiples talentos que exceden su vasto conocimiento de la microcircuitería cortical, para extenderse a las representaciones artísticas de las imágenes cerebrales y a la revisión profunda de la obra de Cajal (Javier sería el bisnieto, ya que se doctoró bajo la dirección de José Rodrigo, quien lo hizo, a su vez, bajo la dirección de Fernando de Castro, discípulo directo de don Santiago). Javier me planteó analizar si las neuronas piramidales de la corteza visual del gato que difieren en cuanto al área específica a la que proyectan también difieren en el grado de inervación inhibitoria que reciben en su soma y en el segmento inicial de su axón, un proyecto que requería un análisis cuantitativo, mediante microscopia electrónica, de las sinapsis inhibidoras recibidas por neuronas que marcábamos previamente durante larguísimas cirugías, en las que inyectábamos intracerebralmente trazadores de proyección. Todo el análisis era tarea ardua y tediosa, y los datos que se generasen se presentarían en un único trabajo que, al final, fueron dos más una revisión que sigue siendo una referencia en el campo.[1-3] Siempre he pensado que mi tesis cultivó mi paciencia y fue una especie de prueba de resistencia y humildad. Pero la hipótesis era correcta: las neuronas corticocorticales recibían un número significativamente mayor de contactos sinápticos que las neuronas que proyectaban desde la corteza al tálamo. No sabíamos lo que significaba, los estudios moleculares en el sistema nervioso iniciaban su andadura entonces. Pero esos datos permanecen hoy en día incuestionables. Hace un par de años, Javier me llamó para contarme que había puesto a punto, junto con un grupo de ingenieros de la Universidad Politécnica de Madrid, y gracias a un prototipo de microscopio electrónico, una metodología que permite, tras fotografiar con resolución ultraestructural la superficie de un bloque de tejido cerebral, desgastar unos nanómetros con radiación ionizante y volver a fotografiar, pudiéndose repetir la operación sucesivas veces hasta reconstruir el bloque completo. Mi tesis se podría hacer ahora en pocos meses.

Tras la tesis regresé a Barcelona. Si iba a vivir más aventuras científicas por el mundo deseaba hacerlo junto a Ignacio, que estaba acabando su propia tesis en la UAB. Así, en 1989, obtuve una plaza de profesora ayudante en el Departamento de Biología Celular y

Anatomía Patológica de la Universidad de Barcelona. Durante tres años combiné tareas docentes, enseñando Histología a estudiantes de medicina, con investigaciones sobre el proceso de liberación del neurotransmisor acetilcolina. El grupo al que me incorporé, que en aquel momento dirigía Jordi Marsal, estudiaba el órgano eléctrico del pez raya *Torpedo*. Este órgano representa una suerte de músculo esquelético modificado, formado por células alargadas llamadas electrocitos, que se apilan y son capaces de generar una descarga eléctrica cuando son estimuladas por la acetilcolina que se libera a partir de los millares de terminaciones sinápticas que las inervan. A diferencia de la conexión sináptica entre neuronas motoras y fibras musculares esqueléticas, representada por una única unión neuromuscular por fibra, las innumerables sinapsis del órgano eléctrico permitían su fraccionamiento subcelular con un rendimiento adecuado. Podíamos aislar, mediante la homogenización del órgano, una suspensión de los llamados «sinaptosomas», terminaciones separadas de sus axones que se resellan de forma natural convirtiéndose en estructuras en suspensión que contienen toda la maquinaria de liberación de acetilcolina. El grupo disponía, además, de un sistema basado en luminiscencia para determinar, en tiempo real, la cantidad de acetilcolina liberada al medio, por ejemplo en respuesta a estímulos y manipulaciones varias. En aquella época, mis estudios se centraron en determinar, mediante aproximaciones farmacológicas, la implicación de los canales de calcio sensibles a voltaje en este sistema. Unos terminales tan pequeños no permitían medir qué corrientes iónicas estaban implicadas en la liberación vesicular mediante registro electrofisiológico. Sin embargo, en esos años se habían obtenido toxinas bloqueantes de todos los subtipos conocidos de canales de calcio dependientes de voltaje a partir de *Conus*, un caracol del Pacífico de bellísima concha, por alargada y afiligranada, que es capaz de devorar peces tras inocularles, mediante su aguijón retráctil, un cóctel mortal de inhibidores de la conductancia nerviosa. Estudié, de esta forma, los canales que estaban implicados en la liberación de acetilcolina en los sinaptosomas de mi pez eléctrico.[4-5] Mis estudios en esa época no constituyeron grandes avances para la ciencia, pero me enseñaron otras formas de pensar sobre sinaptología, me curtieron en lo que representa la actividad del profesor-investigador que debe combinar dos quehaceres sin ser perezoso en ninguno y me proporcionó un tiempo para reflexionar acerca de hacia dónde quería dirigir mi carrera. También aprendí autonomía, algo que encajaba muy bien con mi propia personalidad, y mucha histología, conocimiento que se iba a revelar como extraordinariamente útil en mi siguiente etapa, en el mundo de los ratones con mutaciones específicas generadas por técnicas de recombinación homóloga, una metodología que se empezaba a emplear precisamente en esos años.

En aquella época, cuando justo empezaban los años noventa, tanto Ignacio como yo ocupábamos plazas de profesor ayudante en la universidad. A pesar de esta vinculación, y de que si las perdíamos el futuro podía ser incierto, ambos sentíamos que debíamos salir al extranjero. Siempre apuntamos hacia Estados Unidos, y valoramos tres ciudades grandes, con mucha y buena investigación, y buscamos aquellas temáticas y grupos que más nos atraían. Queríamos un cambio, por lo que nuestra trayectoria previa no constituía realmente una tarjeta de presentación, pero pensábamos que si tan solo un grupo de alto nivel en el ámbito en el que queríamos trabajar cada uno nos aceptaba, tendríamos una oportunidad que aprovechar. Quizá porque contar sinapsis me había hecho ver la importancia del

concepto de población en la regulación de los procesos, en esos tiempos decidí que quería estudiar la regulación del tamaño de las poblaciones neuronales. Quería, además, hacerlo en organismos en los que se pudiera hacer manipulación genética, ni gatos, ni peces eléctricos. Y quería incorporar aspectos de la biología molecular a mis estudios. Escribimos a una veintena de laboratorios y pude elegir entre dos. Todavía hoy en día me doy cuenta del lujo que supusieron ambas oportunidades. Rechacé, únicamente porque mi cuerpo solo puede estar en un lugar a la vez, la oferta en Boston de Robert Horvitz, que en 2002 recibiría el Premio Nobel de Fisiología o Medicina por sus estudios sobre apoptosis en el nematodo *Caenorhabditis elegans*. Y me incorporé en 1993, con una beca de la Fundación Fulbright, al laboratorio de Louis F. Reichardt en la Universidad de California en San Francisco (UCSF), para trabajar en la regulación por neurotrofinas de la supervivencia neuronal en ratones. Mi estancia allí duró cinco años, gracias a una segunda beca, de la Human Frontier Science Program Organization (HFSPO) y a un contrato de investigador de la UCSF.

El laboratorio de Lou Reichardt estudiaba el desarrollo del sistema nervioso, sobre todo en cuanto al establecimiento de las conexiones neurales, y la implicación de moléculas que median adhesión y de moléculas que promueven supervivencia neuronal. Además de un científico de talla mundial, Lou es un héroe americano. Había formado parte de la primera expedición que escaló el Everest por la llamada cara difícil, la Kangshung, algo que uno entiende cuando ve el relieve escarpado como cuchillas en las fotos hechas por Lou desde el campamento base. Era de los pocos alpinistas que subía hasta la cima, como mostraba una foto en su despacho, en la que aparecía con una barba convertida en estalactitas y cara de agotamiento extremo, sosteniendo una bandera estadounidense. Posteriormente coronó el K2, la «montaña asesina», y sus expediciones dieron lugar a películas y a artículos del *National Geographic*. Cuando uno conoce estos datos, es difícil pensar que trabaja para un científico común. Uno de los posdoctorandos que se incorporaba al laboratorio cuando yo ya llevaba allí un par de años me preguntó cómo había conseguido una relación profesional tan buena con Lou. Le dije que cuando yo entraba en su despacho para hablar de mis proyectos, recordaba que él había llegado a la cima del Everest y del K2, así que no me quejaba de los experimentos que no funcionaban; la cobardía no era una opción en nuestro laboratorio. El de Lou era un laboratorio muy grande, con una docena de posdoctorandos. Y, aunque le importaban mucho los proyectos, y su opinión era siempre iluminadora, lo que se respiraba allí era que cada uno era responsable de escalar su propio Everest científico y la autonomía era casi completa. A mí me encantaba la posibilidad de construir mis propias historias. El grupo estaba financiado por el Howard Hughes Medical Institute, lo que garantizaba poder ejecutar prácticamente cualquier experimento, y estaba ubicado en un enclave fabuloso para la interacción científica, con las cercanas universidades de Stanford, donde trabajaba Ignacio, y Berkeley, además de un buen número de empresas de biotecnología, como Genentech. Lou fue, para mí, un excelente supervisor. Lo que más me impresionaba de él era su vasto conocimiento científico; bajo una apariencia casi despistada había un hombre cultivado en muchos temas, pero de forma extraordinaria en biología. Eso hacía que aceptase a investigadores posdoctorales para su grupo procedentes de ámbitos diversos de la biología, generando una especie de crisol de experiencias variopintas en el que las interacciones, y las reuniones de grupo, eran altamente estimulantes.

Me incorporé a la línea de neurotrofinas, una familia de proteínas relacionadas con el factor de crecimiento nervioso o NGF. En la década de los cincuenta, los trabajos seminales de Viktor Hamburger y Rita Levi-Montalcini en la Universidad Washington, en San Luis, sobre el desarrollo de las neuronas motoras de la médula espinal de pollos, demostraron que muchas de las neuronas que se generan en el sistema nervioso durante el desarrollo fetal mueren antes del nacimiento y que eso depende esencialmente del tamaño del tejido diana que las neuronas inervan. La hipótesis neurotrófica postulaba la existencia de moléculas con actividad promotora de la supervivencia neuronal que serían producidas por los tejidos diana en cantidades limitantes, de forma que las neuronas competirían por ellas y solo las que tuvieran éxito sobrevivirían, ajustándose, de esa manera, el tamaño de las poblaciones pre y postsináptica; sin embargo, la posible naturaleza de dichas moléculas era desconocida. Rita Levi-Montalcini unió esfuerzos con el bioquímico Stanley Cohen a fin de purificar el primer factor neurotrófico, el NGF, identificación por la que recibirían el Premio Nobel en 1986. El NGF demostró ser esencial para regular el número de neuronas de los ganglios simpáticos y sensoriales, siendo producido por los territorios a los que estas neuronas proyectan. Si se añadía más NGF, sobrevivían más neuronas. Si se inyectaba la proteína a ratas gestantes, de forma que estas producían anticuerpos contra ella que transferían a sus fetos, el tamaño de los ganglios sensoriales y simpáticos disminuía. Todo parecía apoyar la hipótesis neurotrófica, pero el NGF solo explicaba la supervivencia de unas pocas poblaciones neuronales; debían de existir, por lo tanto, otros factores. Con esa idea, en Alemania, Yves Barde y Hans Thoenen decidieron purificar actividades que promoviesen la supervivencia neuronal partiendo de decenas de cerebros de cerdo, e identificaron así una nueva proteína a la que denominaron factor neurotrófico derivado de cerebro (BDNF). La comparación con el NGF demostró que eran moléculas muy relacionadas en cuanto a sus secuencias. Y como ya era el final de los ochenta, la información obtenida y la clonación de los dos genes permitían identificar nuevas moléculas relacionadas a escala de secuencia nucleotídica. Así se descubrieron la neurotrofina-3 (NT-3), en el laboratorio del propio Lou, y la NT-4/5, que completaban una familia que pasó a denominarse neurotrofinas. Durante mucho tiempo, la única molécula que parecía unir NGF en la membrana plasmática y actuar potencialmente como receptor era la llamada p75, proteína que no poseía ninguna actividad enzimática que pudiera, aparentemente, transducir una señal al interior de la célula. Fue también a finales de los ochenta, en plena efervescencia de identificación de oncogenes, cuando Mariano Barbacid encontró un receptor de tipo tirosina quinasa de membrana que solo se expresaba en los ganglios sensoriales y simpáticos del sistema nervioso periférico. En su breve pero importante incursión en el mundo de la neurobiología, Mariano había identificado el receptor del NGF, que pasó a llamarse TrkA, y demostró, además, que proteínas similares transducían la señal de BDNF y NT-4 (TrkB) y de NT-3 (TrkC).[6]

Dados mis intereses, el control del tamaño de las poblaciones neuronales, en este caso por regulación de su supervivencia, era una temática ideal en una época en la que el campo parecía empezar a moverse rápidamente. En la placa de cultivo, cada una de las neurotrofinas parecía actuar sobre poblaciones neuronales específicas. Pero no existían estudios funcionales en el organismo intacto. En este contexto, resultaba claro que utilizar las nuevas metodologías de eliminación de genes específicos en ratón podría ser de gran utilidad. En el

laboratorio de Lou se inició la generación de dos cepas mutantes de ratones, una que carecería del gen que codifica el BDNF y otra en la que se eliminaría el gen de la NT-3. Cuando yo llegué acababan de obtenerse los primeros mutantes y no sabíamos qué fenotipo esperar, pero ofrecían la posibilidad extraordinaria de evaluar las acciones esenciales de los dos factores neurotróficos. Mi formación en neuroanatomía y mi conocimiento teórico sobre la histología me permitieron plantearme un análisis integral de estos ratones. Dado el interés sobre el tema, se empezaba a ver que, además, factores promotores de la supervivencia neuronal podrían ser potencialmente útiles en enfermedades neurodegenerativas, y era evidente que el laboratorio de Lou no iba a ser el único atareado en generar esos mutantes. Y no lo fue. Nuestra competencia con el laboratorio de Rudolf Jaenisch en Boston fue atroz, aunque mis esfuerzos de entonces acabaron felizmente con publicaciones que salieron simultáneamente. Otros grupos perdieron la carrera. En estas cepas pude identificar cuáles eran los requerimientos neurotróficos esenciales de distintas poblaciones neuronales, demostrar que las neuronas dependen de las neurotrofinas antes de inervar sus tejidos diana, mientras crecen sus axones, y establecer que la NT-3 puede ejercer sus efectos a través de cualquiera de los tres receptores Trk.[6] Fue una etapa trepidante a cada paso. En la misma época se caracterizaba una segunda familia de factores neurotróficos relacionados con el factor GDNF (*glial cell derived neurotrophic factor*), una proteína identificada en una línea de células gliales, que promovía la supervivencia de las neuronas dopaminérgicas, que son las que degeneran en la enfermedad de Parkinson. El receptor para este factor trófico era desconocido, pero el laboratorio de Arnon Rosenthal en Genentech había generado una cepa de ratones que carecía de GDNF y pidió mi ayuda. En ese caso, íbamos a competir directamente con Mariano Barbacid, en cuyo laboratorio se había generado el mismo mutante. Los dos laboratorios publicaron el fenotipo del ratón a la vez, un fenotipo que llevó a identificar el receptor de este factor como c-Ret, un receptor de tipo tirosina quinasa de membrana huérfana hasta entonces. Era llamativa la concordancia de fenotipos de los mutantes que carecían de GDNF y de c-Ret, estos últimos generados ya hacía unos años, y se diseñaron, a partir de eso, los experimentos bioquímicos que llevaron a la demostración final.[7]

Regresar a España fue una decisión muy meditada. Hubiera sido fácil quedarse; muchos de mis compañeros nunca entendieron por qué ni siquiera tanteé mis posibilidades de conseguir un puesto en alguna universidad americana. Pero sentíamos que nuestra labor podría ser más significativa en España, era hora de volver a devolver. En 1998, las reincorporaciones eran todavía contadas, los grandes institutos solo habían comenzado a generarse, en ese mismo año el Centro Nacional de Investigaciones Oncológicas (CNIO), y la ciencia en nuestro país se hacía por aquel entonces, y como siempre antes, o en el CSIC o en una universidad. A pesar de mi productiva trayectoria posdoctoral y de mi determinación, la vuelta no fue nada fácil. Oportunidades que quizá deberían haberse consolidado, apoyos que quizá deberían haber existido, no se materializaron. En aquellos años, la comunidad neurocientífica era todavía bastante apática y fatalista con respecto a las incorporaciones. Buscamos un lugar al que incorporarnos y poder vivir como familia en la misma ciudad, y así nos presentamos y obtuvimos dos contratos de profesor ayudante, igual a los que habíamos dejado en las universidades catalanas cinco años antes, en la Universidad de Valencia. La realidad de la incorporación de investigadores a una universidad española cualquiera en la que no te hubieses formado siempre ha sido difícil. Por un lado, eres un desconocido y has desplazado

a personas que estaban esperando su oportunidad. Por otro, no existen recursos de ningún tipo asociados a tu incorporación, lo que se denomina comúnmente en los países científicamente avanzados *start-up*. Yo ni siquiera disponía de espacio de laboratorio; mi primer banco de laboratorio lo generé con un tablón y dos armaritos detrás de mi mesa de estudio en el medio despacho que mi nuevo departamento me facilitó. A finales de los noventa, España no reclutaba científicos, tan solo los dejaba incorporarse. Unos años más tarde, los nuevos institutos, creados con una mentalidad más proactiva y disponibilidad de contratación, demostraron el gran impulso que se le puede dar a la ciencia aplicando los criterios de reclutamiento dirigido y apoyo logístico que ya se utilizaban en otros países.

No me asustaba la doble tarea de profesora-investigadora, eso ya lo había hecho en el pasado. Pero necesitaba crear un laboratorio, el que siempre había querido tener. Entonces era difícil que se financiase un proyecto solicitado por un contratado, algo que ahora, con las figuras de contratos Ramón y Cajal, ICREA o de fundaciones, nos parece impensable. Así que debía decidir si me arriesgaba a liderarlo yo misma, con la posibilidad de no conseguir la financiación, o me acomodaba a que mi proyecto lo dirigiera un funcionario de mi entorno. Un buen consejo de un buen amigo me llevó a arriesgarme y me concedieron mi primer proyecto del Plan Nacional, con una beca predoctoral asociada, y un segundo proyecto de la Fundación Ramón Areces. Con ellos peleé para conseguir espacio, 60 metros cuadrados de un laboratorio de prácticas que la facultad cedió al Departamento de Biología Celular y Parasitología, al que me había incorporado, para uso interno. Dos profesores, incorporados como yo al departamento desde otros lugares, decidieron unir sus esfuerzos a los míos. Francisco Pérez y Martina Kirstein han seguido conmigo desde entonces. Remodelamos casi con nuestras propias manos ese laboratorio que nos habían cedido y la financiación nos permitió dotarnos del equipamiento mínimo imprescindible para comenzar. Lo logramos poco a poco, como lo habían hecho tantos científicos españoles antes que nosotros en la precaria universidad española de los setenta y los ochenta. Pero empezando el nuevo milenio, la ciencia mundial iba a muchas revoluciones, yo volvía de esa vorágine y no estaba nada claro cuál iba a ser el futuro de esos pequeños pasos en un lugar que parecía tan aislado y tan distante de la ciencia que había vivido en los años anteriores.

En 1999, con mis primeros proyectos concedidos sobre neurotrofinas acudí a la NGF Conference en Estocolmo, viaje que nunca olvidaré. Estaba invitada a impartir una de las charlas; a fin de cuentas, todavía era una investigadora relevante en el ámbito de los factores neurotróficos. En el vuelo de regreso, sobrevolando las nubes que veía a través de la ventanilla del avión, comprendí que no podría mantener un nivel de trabajo en neurotrofinas que estuviese a la altura de lo que había estado haciendo. Parte de mis proyectos y muchas de mis ideas habían quedado en el laboratorio de Lou. Aunque nuestra relación era buena, yo no podría estar a la altura de lo que el resto de mis compañeros podían hacer allí; mi Everest se había hecho más alto y yo estaba en el campamento base. En ese momento de lucidez, o angustia, tuve claro que debía decidir un cambio de rumbo; iniciaría una nueva línea de investigación. Pensé que, mientras me iniciaba en algo nuevo, nadie tendría expectativas concretas y podría desarrollar mi laboratorio con una cierta libertad. Había estudiado el control del tamaño de las poblaciones neuronales mediante mecanismos de eliminación por muerte celular programada. Decidí que abordaría los mecanismos de generación de neuronas, en

el otro lado de la ecuación que determina el número final de neuronas en una población. Era, fue, una decisión muy arriesgada. Podíamos fracasar en el intento y mi producción científica previa, conseguida con tanta dedicación, no me iba a servir para facilitar nuestra introducción como laboratorio en una nueva comunidad científica.

En aquellos años se acababa de describir cómo era el proceso de generación de nuevas neuronas en el cerebro de los mamíferos adultos, lo que denominamos hoy en día neurogénesis posnatal, y se había identificado la naturaleza de las células madre neurales (CMN), presentes en dos zonas específicas del cerebro de los mamíferos. Este sistema suponía que debían de existir mecanismos que contribuyesen al mantenimiento de estas CMN toda la vida (proceso que denominamos de autorrenovación) mientras dan lugar al número requerido de nuevas neuronas. Decidí centrar nuestras investigaciones en la más activa de las dos zonas, el llamado nicho neurogénico de la zona subependimaria (SEZ) o zona ventricular-subventricular (V-SVZ), situada en la pared de los ventrículos laterales y que produce neuronas que migran rostralmente hacia el bulbo olfatorio a cuya circuitería se incorporan, participando en la discriminación olfativa. Las CMN se podían aislar de esta zona y cultivar como agregados clonales esféricos en suspensión denominados «neuroesferas», lo que nos permitiría combinar los análisis en los ratones con experimentos in vitro. Lo más atractivo del sistema era que se recapitulaban procesos que acontecen durante el desarrollo en un sistema accesible y cerrado en un organismo adulto. Podríamos estudiar dinámicas poblacionales teniendo presente los aspectos de neurogénesis, diferenciación neuronal o supervivencia que había estudiado en el sistema nervioso periférico en el desarrollo. Sin embargo, la propiedad que me pareció más interesante fue la de autorrenovación de las células madre, que estas células pudieran mantenerse como población perpetuando su propia existencia y propiedades. Y es en esa propiedad en la que hemos centrado nuestros ensayos durante estos últimos quince años. La autorrenovación es el resultado de la división de una célula madre o troncal en condiciones tales que al menos una de sus células hijas se mantiene como célula madre. Por ello, debe coordinarse la activación de estas células, natural y relativamente quiescentes, con el modo de división que adoptan, para dar lugar a una división simétrica o asimétrica, y el mantenimiento de la multipotencia y la indiferenciación características del estado de célula madre. Un proceso celular fascinante cuya compleja regulación se fundamenta en la integración de señales recibidas por las CMN con sus programas intrínsecos de control.

Debo decir que nuestros comienzos en este tema no habrían sido iguales si Sacri R. Ferrón, en aquella época una recién licenciada en Biología por la Universidad de Valencia, no se hubiera interesado por mi oferta de contrato predoctoral. Con un laboratorio todavía precario, un tema nuevo y difícil y tan solo una estancia de dos meses en el laboratorio de Angelo Vescovi en el National Neurological Institute de Milán para aprender el cultivo de CMN, Sacri fue determinante para que nuestro laboratorio despegase. A ella siguieron estudiantes y posdoctorandos con mayor o menor talento, algunos con mucho, pero su influencia y generosidad en los primeros años fueron muy importantes para generar el estilo de laboratorio que yo quería. Yo quería hacer una ciencia de calidad, publicar historias relevantes que hiciesen avanzar el conocimiento, en la forma como lo hacía en Estados Unidos. Quería resolver nuestras preguntas sobre el proceso de la regulación de la autorrenovación con un sello propio, la creatividad que todo científico busca. Gracias a las personas que han pasado y aún

están en el laboratorio, que han sabido entender esa filosofía de trabajo, con entusiasmo, muchísimo trabajo y ambición, seguimos avanzando para contrastar nuestras hipótesis y contar nuestras historias.

Como decía, en estos años nos hemos centrado en comprender cómo se regula la activación y la autorrenovación de las CMN y cómo estas integran señales de su microambiente con sus programas intrínsecos de control de la activación autorrenovante. De entre los mecanismos intrínsecos hemos elegido reguladores del ciclo celular que, en nuestras células, han mostrado tener funciones que van más allá de su función en ciclo, regulando los programas de expresión génica asociados con el estado de célula madre.[8,9] Sin embargo, el aspecto en el que hemos trabajado con más intensidad ha sido el de los efectos de las interacciones con el microambiente. Podría decirse que nuestro laboratorio es especialista en lo que se denomina «efectos nicho»; en particular, hemos trabajado activamente en identificar y caracterizar señales producidas por la vasculatura y en resolver las estrategias celulares en respuesta a esa señalización. Así, en 2006 describimos la primera molécula que, producida por las células endoteliales, regula la división autorrenovante de las CMN de la SEZ: el factor neurotrófico derivado del epitelio pigmentario de la retina o PEDF.[10,11] Este factor es una proteína con función neuroprotectora y antiangiogénica que promueve, además, la división simétrica de las CMN aumentando su número. Más recientemente, hemos descubierto que la NT-3 de mi estancia en Estados Unidos, con la que tanto trabajé, es sorprendentemente producida por células endoteliales y regula la quiescencia de las CMN, una función hasta ahora inédita para una neurotrofina.[12] Parecería que no puedo alejarme de los factores neurotróficos. A día de hoy, exploramos la autorrenovación de las CMN en respuesta a otros elementos de los nichos neurogénicos como la inervación o la inflamación, que aparecen alterados en enfermedades neurodegenerativas como la EP, en la que también tenemos interés. Entender la regulación del potencial plástico y capacidad de mantenimiento de las células madre en los tejidos adultos, como el nervioso, puede ayudarnos a mejorar las condiciones en las cuales cultivamos estas células para su expansión ex vivo. Esto podría ayudar a optimizar el cultivo de estas células si van destinadas a trasplante dentro del contexto de las estrategias terapéuticas que forman parte de lo que actualmente denominamos medicina regenerativa. Por otro lado, y especialmente en el cerebro en el que las estrategias restaurativas de la función neural mediante trasplante no parecen funcionar, por no conseguirse una integración funcional en la circuitería preexistente de las células trasplantadas, está emergiendo fuertemente el concepto de activación de las CMN endógenas para la restauración de función. Este tipo de estrategia es muy atractiva pero requiere un profundo conocimiento de cómo funcionan estas células en sus microambientes naturales. Dicho conocimiento no solo tiene trascendencia para la terapia celular, sino también para nuestra comprensión de cómo envejecen nuestros tejidos cuando las células madre van perdiendo su potencial.

Mis años como investigadora principal han sido fascinantes a la vez que duros. No ha sido fácil abrirse camino en un tema nuevo, en condiciones muy mejorables y sin verdadero apoyo institucional. Pero, como me enseñó Lou, la ciencia no es para cobardes. Dos años después de incorporarme a la Universidad de Valencia, pasé mi oposición a titular de universidad. Luego llegaron las habilitaciones nacionales y me presenté a su última edición, en 2007,

cuando mis primeros doctorandos defendieron sus tesis. A pesar de ser la investigadora principal ya de diversos proyectos, no me iba a presentar a una cátedra sin haber demostrado que había formado a jóvenes investigadores. En 2008 pasé a ocupar una cátedra de Biología Celular en la Universidad de Valencia. Podría decirse que soy, fundamentalmente, una investigadora universitaria. La carga docente en las universidades españolas es demasiado grande si se quiere combinar con la investigación, pero trasmitir la profesión y formar a los estudiantes es una tarea gratificante. Creo que con un sistema universitario más racional, la investigación adquiriría su máximo sentido en el ámbito de las universidades. Pero la institución tiene demasiada inercia, lastrada por un sistema funcionarial que no sabemos manejar bien a fin de aprovechar sus ventajas minimizando el absentismo vocacional y sobrecargando solo a unos pocos por un falso sentido de democracia. Nuestras historias sobre cómo se comportan las CMN han ido consolidándose, pero, además, los jóvenes que han trabajado conmigo han salido al extranjero o han ido a trabajar a otros grupos nacionales y siempre lo han hecho bien, algunos de ellos muy bien. Sacri volvió después de un exitoso posdoctorado en la Universidad de Cambridge, en Reino Unido, es contratada Ramón y Cajal y dirige su propio proyecto a mi lado. Sí valía la pena volver a España. Mi grupo es, hoy en día, nodo de la RETIC de Terapia Celular y del Centro de Investigación Biomédica en Red sobre Enfermedades Neurodegenerativas, además de grupo de excelencia Prometeo de la Comunidad Valenciana. Por mi parte, las distinciones personales más especiales de mi carrera han sido mi elección como miembro de la European Molecular Biology Organization (EMBO) en 2013 y, más recientemente, mi selección desde la Fundación Botín, dos reconocimientos que me han hecho sentir que el salto en el vacío de 1999, cuando sobrevolaba las nubes de Suecia, no ha salido tan mal. Han sido quince años de muchas cosas, de iniciar un laboratorio desde cero a contar con un excelente equipo de jóvenes profesionales que trabajan con gran entusiasmo, de consolidar mi situación en la universidad, de completar una familia y criar a nuestros dos hijos. Y lo mejor, es que no ha acabado.

Esta es una historia de una individualidad y sería fácil pensar que, si ha terminado siendo una historia de cierto éxito, hay alguna fórmula mágica en ella que pueda ser aplicada a otros. Nada más lejos de la realidad. Además del talento, hay un fuerte componente de suerte en las trayectorias científicas. Parte de esa fortuna deriva del apoyo que la sociedad y sus dirigentes dan a sus investigadores. Siempre he querido que mi país avance y contribuir a ello, entendiendo la enorme responsabilidad social que adquirimos todos aquellos que nos hemos formado y trabajado gracias al esfuerzo del contribuyente español. La ciencia es una gran profesión pero, igual que la mayoría de sus profesionales se ponen al servicio de la sociedad, esta debe ser consciente del valor del trabajo de sus investigadores y no permitir que los vaivenes y frivolidades de políticos temporales pongan en peligro la solidez de las estructuras de generación del conocimiento, así como de todos los niveles de la educación. Una sociedad educada es una sociedad más exigente. Una sociedad educada es una sociedad más rica y más solidaria. Y así debería ser la nuestra, con el esfuerzo de todos.

Publicaciones

1. I. Fariñas y J. DeFelipe, «Patterns of synaptic input on corticocortical and corticothalamic cells in the cat visual cortex. I. The cell body», en *J Comp Neurol*, vol. 304, 1991, pp. 53-69.

2. I. Fariñas y J. DeFelipe, «Patterns of synaptic input on corticocortical and corticothalamic cells in the cat visual cortex. II. The axon initial segment», en *J Comp Neurol*, vol. 304, 1991, pp. 70-77.

3. J. DeFelipe e I. Fariñas, «The pyramidal neuron of the cerebral cortex: morphological and chemical characteristics of the synaptic inputs», en *Prog Neurobiol*, vol. 39, 1992, pp. 563-607.

4. I. Fariñas, C. Solsona y J. Marsal, «Omega-conotoxin differentially blocks acetylcholine and adenosine triphosphate releases from Torpedo synaptosomes», en *Neuroscience*, vol. 47, 1992, pp. 641-648.

5. I. Fariñas, G. Egea, J. Blasi, C. Cases y J. Marsal, «Calcium channel antagonist omega-conotoxin binds to intramembrane particles of isolated nerve terminals», en *Neuroscience*, vol. 54, 1993, pp. 745-752.

6. L. F. Reichardt e I. Fariñas, «Neurotrophic Factors and Their Receptors: Roles in Neuronal Development and Function», en *Molecular and Cellular Approaches to Neural Development*, 1997, pp. 220-263.

7. M. W. Moore, R. D. Klein, I. Fariñas, H. Sauer, M. Armanini, H. Phillips, L. F. Reichardt, A. M. Ryan, K. Carver-Moore y A. Rosenthal, «Renal and neuronal abnormalities in mice lacking GDNF», en *Nature*, vol. 382, 1996, pp. 76-79.

8. E. Porlan, J. M. Morante-Redolat, M. A. Marqués-Torrejón, C. Andreu-Agulló, C. Carneiro, E. Gómez-Ibarlucea, A. Soto, A. Vidal, S. R. Ferrón y I. Fariñas, «Transcriptional repression of Bmp2 by p21(Waf1/Cip1) links quiescence to neural stem cell maintenance», en *Nat Neurosci*, vol. 16, 2013, pp. 1567-575.

9. M. A. Marqués-Torrejón, E. Porlan, A. Banito, E. Gómez-Ibarlucea, A. J. López-Contreras, O. Fernández-Capetillo, A. Vidal, J. Gil, J. Torres e I. Fariñas, «Cyclin-dependent kinase inhibitor p21 controls adult neural stem cell expansion by regulating Sox2 gene expression», en *Cell Stem Cell*, vol. 12, 2013, pp. 88-100.

10. C. Ramírez-Castillejo, F. Sánchez-Sánchez, C. Andreu-Agulló, S. R. Ferrón, J. D. Aroca-Aguilar, P. Sánchez, H. Mira, J Escribano e I. Fariñas, «Pigment epithelium-derived factor is a niche signal for neural stem cell renewal», en *Nat Neurosci*, vol. 9, 2006, pp. 331-339.

11. C. Andreu-Agulló, J. M. Morante-Redolat, A. C. Delgado e I. Fariñas, «Vascular niche factor PEDF modulates Notch-dependent stemness in the adult subependymal zone», en *Nat Neurosci*, vol. 12, 2009, pp. 1514-1523.

12. A. C. Delgado, S. R. Ferrón, D. Vicente, E. Porlan, A. Pérez-Villalba, C. M. Trujillo, P. d'Ocón e I. Fariñas, «Endothelial NT-3 delivered by vasculature and cerebrospinal fluid promotes quiescence of subependymal neural stem cells through nitric oxide induction», en *Neuron*, vol. 83, 2014, pp. 572-585.

GLOSARIO

A

Acetilcolina. Uno de los principales neurotransmisores del sistema nervioso autónomo. Actúa a niveles central (memoria) y periférico, siendo el único transmisor utilizado por la división motora del sistema nervioso somático.

Ácido hialurónico. Polisacárido complejo distribuido ampliamente en el tejido conectivo.

Ácido nucleico. Biopolímero cuyas unidades constituyentes, los nucleótidos, están formados por una de cuatro diferentes bases nitrogenadas (adenina, guanina, citosina y timina en el ADN; y adenina, guanina, citosina y uracilo en el ARN), una molécula de pentosa y un resto de ácido fosfórico. En función de la naturaleza de la pentosa, los ácidos nucleicos se dividen en ribonucleicos (ARN) y desoxirribonucleicos (ADN): los primeros, con múltiples funciones biológicas; los segundos, como sede del contenido informativo de la célula.

Adhesión, molécula de. Proteína transmembrana que interviene en procesos de adhesión celular con otras células o con el medio extracelular. Por ejemplo, cadherinas, integrinas o selectinas.

ADN (ácido desoxirribonucleico). Biopolímero de naturaleza filamentosa, formado por un gran número de unidades, los desoxirribonucleótidos. Las bases son las portadoras de la información genética, en tanto que el resto de la molécula cumple un papel estructural. Constituye el material genético de todas las células y de muchos virus. El esqueleto de la macromolécula es constante a lo largo de toda ella, y está formado por restos de desoxirribosa unidos por enlaces fosfodiéster. La parte variable está constituida por la secuencia de las cuatro bases. En las células, el ADN se organiza en largas estructuras denominadas cromosomas: veintitrés pares en la especie humana; veintidós autosómicos (uno heredado vía paterna y otro vía materna) y uno sexual (X e Y), que albergan, aproximadamente, 20.500 genes. **ADN codificante.** Secuencias codificantes de proteínas. **ADN basura (*junk DNA*).** Partes de ADN que no codifican proteínas (la gran mayoría del genoma es así), aunque pueden tener funciones reguladoras. Este tipo de ADN contiene microsatélites (SSR o SRT, por sus acrónimos en inglés de *simple sequence repeat* y *short tandem repeat*, respectivamente): secuencias de ADN en las que un fragmento de entre dos y seis pares de bases se repite de manera consecutiva; poseen una alta tasa de mutación y se utilizan como marcadores moleculares en una gran variedad de aplicaciones en el campo de la genética, como los estudios de paternidad.

ADN mitocondrial (ADNmt, ADNm). ADN localizado en las mitocondrias que forma un cromosoma circular que codifica treinta y siete genes. Se hereda, únicamente, por vía materna.

ADN recombinante, tecnología del. Conjunto de herramientas utilizadas para identificar, cortar, aislar, reunir y recombinar segmentos de ADN.

Algoritmo. Conjunto de instrucciones que sirven para ejecutar una tarea o resolver un problema en un número finito de pasos u operaciones. El término *algoritmo* no está exclusivamente relacionado con las matemáticas, las ciencias de la computación o la informática. En realidad, en la vida cotidiana empleamos algoritmos en multitud de ocasiones para resolver diversos problemas. Por ejemplo, el uso de una lavadora (se siguen las instrucciones) o para cocinar (se siguen los pasos de la receta). Un algoritmo debe ser definido, finito y preciso.

Alta tecnología médica. Concepto que incluye aquellas técnicas utilizadas en procedimientos diagnósticos o terapéuticos que se caracterizan por su complejidad, aparatosidad y alto precio. Son «grandes» máquinas, como las instalaciones de resonancia magnética, los aparatos de litotricia o los aceleradores lineales.

Aminoácido. Cada uno de los veinte ácidos orgánicos que constituyen los bloques básicos para la construcción de las proteínas. Una proteína es, en principio, una larga cadena de diferentes aminoácidos (cadena polipeptídica) que sufre diversos plegamientos para formar una compleja estructura tridimensional.

ARN (ácido ribonucleico). Ácido nucleico cuyas unidades constituyentes son los ribonucleótidos. Sus bases nitrogenadas son adenina, guanina, citosina y uracilo, o algunos tipos de derivados. La presencia del grupo 2'-OH en el esqueleto carbonado otorga a la molécula una menor flexibilidad, a la vez que una mayor reactividad. Ordinariamente, conforma una única cadena, pero en ciertos casos puede presentarse bajo la forma de doble hélice con su cadena complementaria o de ADN. De acuerdo con su función se clasifica en: ARN implicados en la síntesis de proteínas (mensajero, de transferencia, ribosómico), ARN reguladores (interferencia, microARN, antisentido) o con actividad catalítica (ribozimas, espliceosomas). Constituye el genoma de muchos virus y bacteriófagos.

Acuaporina. Proteína integral de membrana que forma poros en las membranas celulares a través de los cuales fluye el agua más rápidamente que si lo hiciera difundiéndose por la bicapa fosfolipídica que, fundamentalmente, forma la membrana celular.

Adenosina. Molécula con importantes funciones en procesos bioquímicos como la transferencia de energía en forma de ATP (trifosfato de adenosina) o como transductor de señales como AMPc (monofosfato de adenosina cíclico). También desempeña un importante papel como neuromodulador central y periférico.

Amiloidosis. Término genérico referente al depósito patológico extracelular de un material proteico, amorfo, insoluble y resistente a la proteólisis.

Angiogénesis. Proceso de neoformación vascular. El proceso de neovascularización es necesario para la alimentación de los tumores sólidos y su posterior crecimiento y diseminación. La angiogénesis está limitada, en condiciones normales, a los procesos de cicatrización, superación de lesiones isquémicas, desarrollo de la mama durante el embarazo o el desarrollo muscular al hacer deporte.

B

Biomedicina. Medicina clínica basada sobre los principios de las ciencias naturales: biología celular y molecular, genética, bioquímica o biofísica.

Biónica. 1. En el ámbito médico, se refiere al desarrollo de órganos artificiales: piel y pabellones auriculares sintéticos, vasos sanguíneos, corazón, riñón, hígado, miembros, etcétera. **2.** El término también se aplica a cualquier diseño mecánico que emula el comportamiento de un organismo vivo. Los robots de varias clases que se desplazan mediante miembros artificiales o el jugador de ajedrez que utiliza AI, se denominan *máquinas biónicas*.

Biopolímero. Cada una de las clases de polímeros que tienen un papel fundamental en el mantenimiento de las estructuras y en las funciones de los seres vivos. Sus unidades químicas son diferentes (aminoácidos, nucleótidos y monosacáridos) y originan, respectivamente, las proteínas, los ácidos nucleicos y los polisacáridos (glucógeno, etcétera).

Biorreactor. Cualquier sistema, a micro o macroescala, utilizado para llevar a cabo reacciones enzimáticas.

Biosensor. 1. Cualquier sensor que transmita datos relativos a un proceso biológico (presión arterial, glucemia, etcétera). **2.** Sistema que utiliza material biológico inmovilizado para detectar y medir un compuesto químico.

Biomimética, biomímesis, biomimetismo. Estudio de la naturaleza como fuente de nuevas tecnologías innovadoras para solucionar aquellos problemas que la naturaleza ya ha resuelto.

Bifosfonato. Agente no hormonal utilizado para la prevención y el tratamiento de enfermedades con resorción ósea, como la osteoporosis o las metástasis óseas cancerosas.

Blastocisto. Estructura embrionaria preimplantacional hueca, compuesta por entre cincuenta y cien células. Consta de una capa trofoectodérmica que rodea una cavidad o blastocele, en la que se dispone, excéntricamente, una masa celular interna compuesta por blastómeros.

Blastómero. Célula embrionaria pluripotente derivada de la masa celular interna del blastocisto que resulta de las primeras divisiones del huevo fecundado o cigoto y es capaz de producir linajes celulares de cualquiera de las tres capas celulares embrionarias (ectodermo, mesodermo y endodermo). Es, por lo tanto, una célula totipotente.

C

Cáncer. Conjunto de enfermedades caracterizadas por la división rápida e incontrolada de un grupo de células del organismo. La tasa de crecimiento es tan precipitada que las células cancerosas llegan a interferir con las funciones normales del enfermo, lo que puede llevar a su muerte. Las células cancerosas tienen las propiedades de pérdida de inhibición por contacto, invasividad y capacidad de metastatizar.

Cascadas de transducción de señales. Conjunto de proteínas de la célula encargadas de transmitir información desde la superficie celular hasta el núcleo. Esta información puede ser muy variada; así, se transmiten señales proliferativas, de diferenciación o apoptóticas, entre muchas otras.

Catecolamina. Cada uno de los metabolitos del aminoácido tirosina: dopamina, adrenalina (epinefrina) y noradrenalina (norepinefrina). La dopamina y la noradrenalina son neurotransmisores (el primero a nivel central, cuyo déficit causa la enfermedad de Parkinson; el segundo es el efector periférico del sistema nervioso simpático); la adrenalina, producida en la médula adrenal, tiene importantes actividades metabólicas.

Célula glómica. Clase de célula de tipo neuronal que forma parte del glomus o cuerpo carotídeo, ubicado en la bifurcación de la arteria carótida. Es un órgano quimiorreceptor sensible a cambios en la pO2 en la sangre arterial. Las células glómicas producen dopamina, neurotransmisor cuyo déficit en el sistema nervioso central provoca la enfermedad de Parkinson; también producen GDNF (*glial line-derived neurotrophic factor*), un factor neurotrófico.

Célula troncal (*stem cell*), traducido frecuentemente como **célula madre.** Células que pueden dividirse asimétricamente dando lugar a una réplica de sí mismas (autorrenovación) y a una célula capaz de diferenciarse en diversos tipos de células. Si esta célula puede generar un organismo completo se denomina totipotente (mórula). Las células pluripotentes (blastómeros) no pueden originar un organismo completo, pero sí cualquier célula correspondiente a los tres linajes embrionarios (ectodermo, mesodermo o endodermo).

Si la capacidad de diferenciación queda restringida a uno de los linajes embrionarios se denominan multipotentes.

Ciclo celular. Conjunto de procesos necesarios para que una célula pase de un estado de reposo a la división celular. El ciclo celular se divide en cuatro etapas: G1 (salida del estado de quiescencia), S (síntesis del nuevo ADN), G2 (preparación para la mitosis) y M (mitosis). El tránsito de una etapa a otra está controlado por los denominados puntos de control, que son irreversibles, por lo que, tras ser superados, las células han de pasar a la etapa siguiente. Las diferentes fases del ciclo están reguladas por una familia de proteínas denominadas *ciclinas*.

Cirugía estereotáxica. Técnica de abordaje endocraneal que utiliza un dispositivo externo de coordenadas tridimensionales para localizar las estructuras profundas cerebrales y poder acceder a ellas con la precisión requerida.

Citoesqueleto. Red estructural que presentan las células eucariotas, responsable del mantenimiento de la forma, el transporte intracelular, la motilidad celular y, en general, la organización interna de la célula. Se ramifica por toda la célula a base de microtúbulos, microfibrillas y microfilamentos, de estructura proteica.

Citoquina. Cada uno de los factores polipeptídicos solubles, producidos y segregados por diferentes tipos celulares, que actúan como mensajeros químicos autocrinos, paracrinos o endocrinos. Las linfoquinas, las interleuquinas y los factores de crecimiento son citoquinas.

Clon. Réplica exacta de un objeto, animado o inanimado. **1.** *Genética*. Conjunto de células, genéticamente idénticas, producido por divisiones mitóticas de una célula original. Conjunto de organismos, genéticamente idénticos, todos ellos descendientes de un mismo parental mediante un proceso asexual. Conjunto de moléculas de ADN derivadas de una secuencia original y producidas mediante técnicas de ingeniería genética. **2.** *Realidad virtual*. Cuerpo virtual, réplica exacta de uno real, a partir de los datos morfofuncionales transmitidos a distancia y reconstruidos en un ambiente virtual.

Clonación. 1. Proceso de insertar ADN en un vector para su posterior amplificación o manipulación. **2.** Réplica de un individuo mediante técnicas de transferencia nuclear.

Clonalidad. Característica de los tumores por la que se van seleccionando, cada vez, grupos de células (clones) con capacidad de división más agresiva. Cada nueva mutación, que da una ventaja a la célula que la sufre y permite que se divida más rápidamente que antes de sufrir la mutación, es un nuevo proceso de clonalidad, por lo que este suceso se da repetidas veces durante el desarrollo tumoral.

Corriente capacitiva. A diferencia de una resistencia, en el caso de una célula la respuesta de voltaje varía más lentamente que el cambio de corriente. Este retraso generado en la estabilización del voltaje se debe a la capacitancia.

Crecimiento epitaxial, epitaxia. Proceso de fabricación de circuitos integrados mediante deposición cristalina en el que se consigue hacer crecer finas capas de material sobre un sustrato.

Criofractura. Técnica utilizada en microsopia electrónica de transmisión que consiste en la congelación de la muestra con nitrógeno líquido, seguido de un corte o fractura y el sombreado de la superficie de la muestra.

Célula cromafín. Célula neuroendocrina que se encuentra en la médula adrenal y en los ganglios del sistema nervioso autónomo, aunque también en las mucosas intestinal, vesical y prostática. Secretan diversos neuropéptidos (adrenalina o epinefrina, noradrenalina o norepinefrina y encefalina).

D

Dendrímero. Macromolécula tridimensional de construcción sintética arborescente.

Dendrón. Concepto establecido por John C. Eccles (premio Nobel de Fisiología o Medicina en el año 1963) para explicar el fenómeno de la consciencia. Eccles propuso que el mundo mental es microgranular, denominando *psicones* a las unidades mentales. Idealmente, cada psicón debería tener una base anatómica discreta (dendrón). La interacción mente-cerebro se produciría en el ámbito de cada unidad psicón-dendrón.

Dopamina. Neurotransmisor cuya disminución en las células dopaminérgicas de la sustancia negra mesencefálica causa la enfermedad de Parkinson.

Droga. 1. *Fármaco*. Cualquier producto utilizado como medicamento. **2.** *Estupefaciente*. Sustancia o preparación que produce, circunstancialmente, sensación de bienestar y euforia. La administración repetida provoca la adicción psíquica y física a esta (dependencia o drogadicción).

E

Electroforesis. Método de fraccionamiento molecular basado en diferencias de movilidad en un campo eléctrico que es función de la carga de las moléculas.

Enfermedad monogénica. Aquella causada por la ausencia o defectos de un solo gen y que sigue un modo de herencia mendeliano. La mayoría de las enfermedades implican varios genes (enfermedades poligénicas), así como condicionantes ambientales.

Enfermedad de Parkinson. Enfermedad neurodegenerativa progresiva, de aparición tardía y curso

lento, caracterizada por temblor de reposo, inexpresividad facial, paso corto y rápido, lentitud de movimientos y debilidad muscular. Se debe a la incapacidad de biosintetizar dopamina (un neurotransmisor) por las neuronas de la sustancia negra cerebral, un núcleo neuronal situado en la base cerebral cuyos componentes producen dopamina como neurotransmisor. Junto al tratamiento farmacológico (administración de dopa, un precursor de la dopamina) se ha propuesto el trasplante neuronal.

Ensayo clínico. Tipo de estudio clínico en el que se investiga una pregunta importante en medicina para aumentar el conocimiento. La mayoría de los ensayos clínicos que se llevan a cabo evalúan nuevos fármacos o tratamientos experimentales médicos con un protocolo de investigación estrictamente controlado. Un ensayo clínico debe ser controlado, prospectivo, aleatorio, ciego y con tamaño muestral suficiente.

Enzima. Catalizador de las reacciones bioquímicas específicas cuya estructura se había considerado universalmente como perteneciente a la clase de las proteínas. Sin embargo, dicha actividad catalítica ha sido encontrada también en algunos ácidos ribonucleicos (ribozimas). Se denomina isoenzima a cada una de las formas de una enzima, con la misma actividad específica pero con distintas características químicas o inmunológicas. Por ejemplo, la glucoquinasa, enzima implicada en el metabolismo de los hidratos de carbono; la fosfolipasa, en el metabolismo de los fosfolípidos que forman las membranas biológicas; o las proteasas, en el de las proteínas.

Epidermólisis bullosa o ampollosa. Conjunto de enfermedades de la piel, aunque también en las mucosas, transmitidas genéticamente, que se manifiestan por la aparición de ampollas, heridas o úlceras ante cualquier mínimo traumatismo (por ejemplo, roce).

Epigenética. Estudio de la modificación, en la expresión génica, que sin obedecer a mutaciones afectan al fenotipo.

Espliceosoma (*splicing*). Máquina molecular compleja que lleva a cabo el mecanismo de corte y empalme en el procesado del ARN mensajero eucariótico. Consta de más de treinta proteínas y varias moléculas de ARN especializado.

Estatina. Grupo de fármacos utilizados para inhibir la síntesis de colesterol endógeno, frente a otro que bloquea la absorción intestinal de colesterol exógeno.

Factor de crecimiento. Cada uno de los miembros de una superfamilia de proteínas responsable del desarrollo y la supervivencia celular.

Factor neurotrófico. Factor de crecimiento neuronal.

Isómero. Cada uno de los compuestos que tienen idéntica fórmula molecular pero difieren en el modo de unión de los átomos o en su disposición espacial. Los primeros se llaman *isómeros de constitución*; los segundos, *estereoisómeros*.

Estrés oxidativo. Alteraciones estructurales o funcionales en un organismo causadas por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (derivados de oxígeno producidos en el metabolismo celular muy reactivos con diferentes componentes biológicos) y la capacidad para su neutralización.

Exón. Fragmento de ADN en la secuencia de un gen eucariótico que contiene los codones específicos de una secuencia de aminoácidos de un determinado polipéptido; contiene también la información de comienzo y terminación de la secuencia.

F

Factor de crecimiento. Cada uno de los agentes capaces de inducir la proliferación, desarrollo y diferenciación de diversos tipos celulares. Por ejemplo, el factor angiogénico, que induce la neoformación de vasos sanguíneos.

Farmacogén. Gen transfectado con fines terapéuticos.

Farmacogenética. Estudio del efecto de la variabilidad genética de un individuo en su respuesta a determinados fármacos. Es la base de la medicina personalizada.

Fosforilación-desfosforilación. El proceso de introducción de un grupo fosfato en una molécula y su eliminación, reversibles, es un acontecimiento fundamental en la trasmisión de señales biológicas.

Fotónica. Estudio de la generación, control y detección de fotones.

G

Gen. Unidad funcional básica de material genético ubicada en un lugar particular de un cromosoma. Originalmente se lo consideraba como la unidad de herencia y mutación, pero en la actualidad se define como una secuencia de ADN que actúa como la unidad que controla la formación de una cadena polipeptídica. En los organismos diploides, incluida la especie humana, los genes aparecen en forma de pares de alelos. Un gen puede dividirse en una región estructural y otra reguladora. La región estructural contiene secuencias que transcriben ARN mensajeros que traducirán proteínas. La región reguladora consta de dos clases de elementos. Una es la responsable de asegurar la expresión basal y tiene dos componentes: el proximal dirige el contacto con la ARN polimerasa y el distal (promotor) especifica la

frecuencia de iniciación. La segunda es la encargada de la regulación de la expresión (elemento de respuesta), y consta de elementos que estimulan (*enhancers*) o silencian la expresión, y de otros que median la respuesta a varias señales. La expresión específica de tejido implica secuencias de este último tipo.

Gen supresor de tumores. Gen cuya eliminación favorece el desarrollo tumoral. Al recuperar su función, se revierte el fenotipo de las células transformadas.

Genoma. Conjunto de genes que especifican todos los caracteres potencialmente expresables de un organismo dado, sin connotación alguna de la naturaleza alélica de los genes integrantes. La secuenciación de la totalidad de las bases que lo constituyen fue el objetivo final del Proyecto Genoma.

Genómica. Estudio comprensivo del conjunto de genes y de sus interacciones.

Genómica estructural. Estudio de la estructura tridimensional de las proteínas y sus dominios estructurales y funcionales utilizando técnicas experimentales y de simulación mediante el uso de ordenadores.

Genómica funcional. Estudio del genoma para determinar la función biológica de los genes y de sus productos.

Genopatía. Enfermedad debida al genotipo. Una enfermedad es monogénica cuando se debe a la alteración de un único gen, y poligénica si son varios los genes implicados.

Genotipo. Conjunto de genes de un individuo. Normalmente se refiere a los pares de alelos que una persona tiene en una región del genoma. La manifestación externa de un genotipo en un ambiente determinado se denomina *fenotipo*.

I

Inflamación. Proceso desencadenado por la agresión de diferentes agentes (biológicos, químicos o físicos) al organismo. En un principio es localizado y temporal, y la respuesta inflamatoria tiende a neutralizar al agente agresor (microorganismos) y limitar la lesión tisular. En la respuesta participan los vasos y las células intravasculares y tisulares de la región afectada, en un proceso coordinado por mediadores químicos diversos. En situaciones particulares, el proceso inflamatorio puede generalizarse (*shock* inflamatorio), provocando un fracaso multiorgánico terminal, o cronificarse (por ejemplo, artritis reumatoide); en este último caso siempre existe un proceso inmunológico asociado.

Ingeniería genética. Conjunto de técnicas que permiten aislar y fraccionar el ADN de una célula en fragmentos específicos, y ensamblar los fragmentos obtenidos con otra macromolécula de ADN portadora (ADN recombinante). Esto posibilita la transferencia de información genética entre organismos y la fabricación de proteínas específicas a escala industrial.

Inmunoensayo. Análisis inmunológico en el que una enzima se utiliza como marcador para indicar la presencia de antígenos o anticuerpos específicos.

Inotrópico. Fármaco que potencia la función (por ejemplo, fármaco cardioinotrópico).

Intrón. Fragmento de ADN que no es capaz de expresarse bajo la forma de una proteína. En los genes se localizan entre los correspondientes exones, y el conjunto de intrones y exones se transcribe bajo la fórmula de una larga molécula de ARN mensajero que posteriormente se escinde y engarza (*splicing*) en una nueva molécula de ARN mensajero que ya traduce la proteína correspondiente.

Investigación traslacional o del laboratorio a la clínica. Aquella orientada a resolver problemas clínicos.

K

***Knock out*, noqueo génico. 1.** Procedimiento para eliminar la presencia o la actividad de un determinado gen. Sirve para la obtención de modelos animales particulares de enfermedades en las que el gen está defectuoso o ausente. **2.** Organismo al que se le ha silenciado (noqueado) un gen.

L

***Lab-on-a-chip* (LOC).** Dispositivo que integra una o varias funciones propias de un laboratorio convencional en un único chip, lo que permite el manejo de volúmenes extremadamente pequeños. Pertenecen al ámbito de los sistemas microelectromecánicos (MEMS) o microsistemas de análisis total (μTAS). Los LOC están íntimamente relacionados con la microfluídica.

Leptina. Hormona inhibidora del apetito producida principalmente por los adipocitos del tejido graso. Funciona a modo de lipostato: cuando la cantidad de grasa almacenada en los adipocitos aumenta, estos liberan leptina que informa al hipotálamo de que el organismo dispone de suficientes reservas de energía y debe moderarse la ingesta de alimentos.

Leucemia. Enfermedad cancerosa de los órganos hematopoyéticos, caracterizada por la proliferación descontrolada de leucocitos y sus precursores. Por sus características evolutivas se clasifican en agudas y crónicas; de acuerdo con el linaje celular afectado se dividen, en términos generales, en linfoides (células mononucleadas o linfocitos) y mieloides (células multinucleadas o leucocitos polimorfonucleares).

Ligando-receptor. Complejo que resulta de la interacción de ligandos diversos (factores de crecimiento,

hormonas) con sus correspondientes receptores específicos de membrana. Esta interacción inicia la secuencia de etapas del mecanismo de transducción de señales, que conduce a la regulación final de la transcripción nuclear.

Luciferasa. Enzima que cataliza la utilización de la luciferina en los procesos bioluminiscentes.

M

Meiosis. Sucesión de dos divisiones celulares con una sola reproducción cromatídica, lo que da origen a cuatro células sexuales con el número de cromosomas reducidos a la mitad. En la primera de las dos divisiones se produce la recombinación de la información genética paterna con la materna.

Metástasis. Grupo de células cancerosas que han migrado desde el sitio de origen del tumor a otras regiones del organismo y crecen en estas constituyendo un nuevo tumor o tumor metastásico.

Microfluídica. Campo de intersección (ingeniería, física, química, bioquímica, biotecnología, electrónica, nanotecnología) que abarca desde las aplicaciones hasta el diseño de microsistemas que procesan mínimos volúmenes de fluidos con un muy bajo gasto energético.

***Microarray*.** Microdispositivo basado en la fijación de sondas (genes, proteínas, metabolitos) sobre un sustrato sólido (sílice, plástico) y expuesto a moléculas diana (la muestra).

Mitosis. Proceso de división celular por el que una célula produce dos células hijas genéticamente idénticas. A la división del núcleo (carioquinesis), que se lleva a cabo en cuatro estadios (profase, metafase, anafase y telofase), le sigue la división del citoplasma (citoquinesis), para formar las dos células hijas.

Morfógeno. Sustancia que gobierna el patrón del desarrollo tisular y, en particular, las posiciones de varios tipos de células especializadas dentro de un tejido. Su efecto se expande desde una fuente localizada, formando un gradiente de concentración a lo largo de un tejido en desarrollo. La definición del morfógeno es conceptual, no química.

Mutación. Error de copia (aleatorio o inducido) en el proceso de replicación del ADN que los sistemas de verificación y el de reparación del ADN han pasado por alto. Pueden ser neutras, deletéreas o positivas.

N

Nanofotónica. Se ocupa del estudio de las interacciones entre la materia y la luz en la escala nanométrica, así como de la fabricación de material nanoestructurado, modificado de forma natural o artificial, en sus propiedades físicas, químicas o de estructura para explorar y aumentar las reacciones a esta escala cuando interactúa con la luz láser.

Nanotecnología. Manipulación de la materia en dimensiones del orden de 10^{-9} a niveles atómico y molecular para fabricar dispositivos a escala supramolecular.

Neurofibrillas. Haces de neurofilamentos de aproximadamente 10 nm de diámetro que forman parte del citoesqueleto neuronal.

Neurotransmisor. Las neuronas tienen la capacidad de producir y segregar mensajeros químicos especializados denominados *neurotransmisores*. Suelen agruparse en neurotransmisores de molécula pequeña, generalmente metabolitos de aminoácidos (tirosina, histamina, serotonina), como las catecolaminas o el ácido gamma-aminobutírico, y neuropéptidos, cadenas de aproximadamente dos a cuarenta aminoácidos, como el ACTH o las endorfinas (opioides endógenos).

Nocicepción. Proceso neuronal (iniciado por nociceptores o receptores del dolor) mediante el que se codifican y procesan los estímulos potencialmente dañinos para el organismo.

Nucleosoma. Unidad básica del empaquetamiento del ADN. Consiste en segmentos de ADN que rodean un elemento proteico central.

O

Ómica. Término genérico que se refiere a los nuevos campos de la biología actual: la genómica (estudio de la estructura y función de los genes de un organismo), la proteómica (estudio de la estructura y función de las proteínas de un organismo) y la metabolómica (estudio global del metabolismo de un organismo) abren nuevas oportunidades para la aplicación del conocimiento biológico-molecular en medicina.

Oncogén. Gen que, en alguna de sus formas, es oncogénico; es decir, tiene capacidad de dirigir la transformación de una célula normal en una célula cancerosa. En su forma normal (protooncogén) está involucrado en la regulación de las rutas de señalización de la proliferación celular.

P

***Patch clamp*.** En electrofisiología, la fijación o pinzamiento zonal de membranas es una microtécnica de laboratorio que permite, mediante el empleo de micropipetas, el estudio individual o múltiple de canales iónicos, en especial en células excitables como neuronas o cardiomiocitos.

Plásmido. Elemento genético, bajo la forma de pequeña molécula de ADN circular, que permanece separado del cromosoma bacteriano y se replica independientemente de él.

Plasmónica. Rama de la nanofotónica que se basa en el estudio de los procesos de interacción entre la radiación electromagnética y los electrones de conducción en interfaces metal-dieléctrico. Los comportamientos que se observan como consecuencia de dicha interacción pueden interpretarse a partir de la existencia de plasmones (oscilaciones colectivas de los electrones de conducción) que poseen características relacionadas con el metal, la longitud de onda de iluminación y el medio circundante.

Progeria. Enfermedad genética que se manifiesta en la infancia, caracterizada por un envejecimiento brusco y prematuro.

Proteína G. Tipo de receptor celular.

Proteína quinasa. Cada una de las enzimas implicadas en los procesos de fosforilación proteica.

Proteína Ras. Cada uno de los miembros de una familia de proteínas que, junto con el gen que lleva el mismo nombre, forman un conjunto de interruptores-reguladores moleculares muy importantes en una gran variedad de rutas de transmisión de señales celulares que controlan diferentes fenómenos: integridad del citoesqueleto; proliferación, diferenciación, adhesión y migración celular y la apoptosis. Tanto el gen como las proteínas Ras relacionadas, a menudo están alterados en los tumores malignos, provocando un aumento en la capacidad de invasión y metástasis, y una disminución de la apoptosis.

Proteostasis. Proceso que integra las vías biológicas celulares que controlan la biogénesis, el plegamiento, el tráfico y la degradación de las proteínas de un organismo.

Prótesis. Dispositivo artificial que reemplaza o provee una parte o función del cuerpo, que falta o falla por diversas razones.

Purinérgico. Tipo de receptor de membrana cuyo ligando son diferentes nucleótidos o adenosina.

Q

Quimioquina. Cada uno de los miembros de una familia de mediadores quimiotractores (atraen diferentes tipos de células a un foco tisular determinado).

Quinoma. Conjunto de proteínas quinasas de un genoma.

R

Radionucleido. Cada uno de los elementos químicos con configuración inestable que experimenta una desintegración radiactiva que se manifiesta en la emisión de radiación en forma de partículas alfa o beta y rayos X o gamma.

Reacción en cadena de la polimerasa (PCR, *polymerase chain reaction*). Técnica para la amplificación enzimática in vitro de secuencias nucleotídicas específicas.

Recombinación. Proceso normal por el que se intercambian segmentos de ADN entre los cromosomas homólogos durante la gametogénesis. Los gametos resultantes contienen cromosomas que son derivados de ambos homólogos. Generalmente, cuanto más separados están los loci mayor es la posibilidad de recombinación; la máxima frecuencia de recombinación es del 50% para dos loci localizados en cromosomas separados.

Reflectividad. Fracción de radicación incidente reflejada por una superficie.

Retrovirus. Virus ARN cuya principal característica es la presencia de una ADN polimerasa-ARN dependiente conocida como transcriptasa inversa. Esta enzima permite que el ARN dirija la síntesis del ADN que se integra en el genoma de la célula infectada, tras lo cual puede trascribirse y dar lugar a varios ARN mensajeros codificadores de las proteínas virales. Algunos de ellos contienen secuencias con potencial oncogénico (oncogenes virales) capaz de inducir tumores en diferentes especies.

S

Cribado (*screening*). Estrategia aplicada sobre una población para detectar una enfermedad en individuos sin signos o síntomas de esta. Por ejemplo, el cribado de metabolopatías congénitas en el recién nacido (la prueba de la gota de sangre en el talón).

Sinapsis. Espacio intercelular a través del cual se produce la transmisión de señales e intercambio de información entre células nerviosas (neurosinapsis) o entre células del sistema inmunológico (inmunosinapsis).

Sinaptosoma. Terminal sináptica aislada de una neurona.

T

Tauopatía. La proteína tau es un componente esencial del citoesqueleto neuronal. La presencia de formas anómalas de esta proteína causa enfermedades neurodegenerativas, en especial alzhéimer.

Telómero. Región repetitiva de secuencias nucleotídicas localizada en los extremos cromosómicos. Excluidos del proceso de replicación del resto del cromosoma se acortan en cada división celular. Su mantenimiento exige la presencia de una enzima (telomerasa) que disminuye con la edad de la célula, y que está relacionada con la senescencia y procesos como el cáncer.

Traducción. Cambio de la información contenida en la secuencia de los cuatro nucleótidos del ARN mensajero por la debida al ordenamiento de los veinte aminoácidos en la estructura de las cadenas polipeptídicas. El proceso se produce en el seno de los ribosomas en

los que se establece la interacción de los codones del ARN mensajero con la región del anticodón de los aminoacil-ARNt. Se distinguen en ella las etapas de iniciación, elongación y terminación, en las que participan diferentes factores proteicos.

Transcripción. Biosíntesis de ácido ribonucleico (ARN) a partir de ácido desoxirribonucleico (ADN), que actúa como molde de los cuatro tipos de nucleósidos trifosfatos que sirven de sustratos, y de la enzima ARN-polimerasa, que cataliza el proceso. El ARN sintetizado posee diferente funcionalidad: ribosomal (ARNr), de transferencia (ARNt) y mensajero (ARNm).

Transcriptasa inversa. Enzima que cataliza el proceso de transcripción en sentido inverso, es decir, la síntesis de ADN dirigida por ARN. Puede ser de origen viral o celular con participación en procesos de diferenciación, amplificación génica o inmunogenéticos. Sinónimo: *ADN polimerasa ARN dependiente*.

Transcriptoma. Todos los ARN mensajeros o transcritos en un tejido y en un tiempo en particular.

Transducción de señales. Mecanismo complejo, fundado en interacciones proteína-proteína que inducen fosforilaciones y desfosforilaciones de las propias proteínas, por el que la actuación de las señales externas a la célula, mensajeros químicos (hormonas, factores de crecimiento, citoquinas, etcétera), sobre sus respectivos receptores provoca una serie de actuaciones en cascada que conduce a la activación de uno o varios genes que concluye con una manifestación final de naturaleza bioquímica.

Translocación. Tipo de mutación en la que parte de un cromosoma se transfiere a otro lugar del mismo cromosoma, o a otro diferente. Este trasiego de genes puede originar trastornos genéticos graves.

Trasplante. Cualquier implante (injerto) de tejido u órgano en un individuo. Por su localización se dividen en homotópicos (implante en el lugar anatómico correspondiente) y heterotópicos (en lugar diferente al anatómico). Por su procedencia se clasifican como autotrasplante o trasplante autólogo (trasplante desde una parte a otra en el mismo individuo), isotrasplante o trasplante singénico (entre individuos genéticamente idénticos); alotrasplante u homotrasplante (entre individuos de la misma especie compatibles pero genéticamente diferentes) y xenotrasplante o heterotrasplante (trasplante entre individuos de especies diferentes).

Tumor. 1. Crecimiento anómalo de un tejido normal sin finalidad funcional alguna. El crecimiento limitado, no invasivo, se denomina *tumoración benigna*; el crecimiento ilimitado, que invade las estructuras vecinas, corresponde a un tumor maligno o cáncer. **2.** Uno de los llamados signos cardinales de la inflamación. Cualquier tejido inflamado (por ejemplo, una articulación artrítica) presenta aumento de volumen (tumor), enrojecimiento (rubor), calor y dolor.

Tumor maligno. Se denomina así a un tumor sólido con la capacidad de invadir los tejidos y órganos colindantes y de diseminarse a regiones distantes del organismo.

Tumor metastásico. Véase ***metástasis***.

Tumor primario. Aquel que constituye el grupo de células inicial y a partir del cual se ha desarrollado el cáncer.

Tumor sólido. Aquel que afecta a un tejido u órgano sólido, en contraposición a lo que ocurre con los tumores hematopoyéticos denominados, en términos generales, *leucemias*.

Transistor de efecto de campo (FET, *field-effect transistor*). Familia de transistores que se basan en el campo eléctrico para controlar la conductividad de un canal en un material semiconductor.

V

Valproato. Fármaco con propiedades anticonvulsivas indicado en el tratamiento de la epilepsia.

Vector. Elemento génico (plásmido) que puede utilizarse para construir moléculas de ADN recombinante para su introducción en células vivas.

Virus. En biología, entidad no celular capaz de replicarse en el seno de células vivas específicas. Se clasifican en virus ADN y virus ARN, de acuerdo con la naturaleza de los ácidos nucleicos que conforman su genoma y que, a su vez, pueden estructurarse en una (monocatenarios) o dos (bicatenarios) cadenas. El ciclo viral contempla un reservorio y un vector inmunes a sus efectos, y un huésped final sensible a sus efectos. Pueden dar lugar a epidemias o ser endémicos, y sus consecuencias banales o mortales. Son responsables de epidemias y pandemias comunes de mayor o menor gravedad (gripe), o de otras denominadas emergentes caracterizadas por su elevada mortalidad (sida, enfermedades hemorrágicas). Un tipo especial, los lentivirus (por ejemplo, virus del sida), tiene periodos de incubación de incluso años.

© Fundación Botín, 2015

Edición
Fundación Botín

ISBN: 978-84-15469-49-0
Depósito legal: M-38089-2015

Coordinación editorial
Turner
www.turnerlibros.com

Diseño e ilustraciones
Setanta

Traducción
Jesús Cuéllar

FUNDACIÓN
BOTÍN