

MODELOS ANIMALES EN INVESTIGACIÓN
BIOMÉDICA

**INSTITUTO DE ESPAÑA
REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA**

**MODELOS ANIMALES EN
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA**

DISCURSO DE INGRESO PRONUNCIADO POR EL

**EXCMO. SR. D. JESÚS ÁNGEL
FERNÁNDEZ-TRESGUERRES HERNÁNDEZ**

EN EL ACTO DE SU TOMA DE POSESIÓN
COMO ACADÉMICO DE NÚMERO
EL DÍA X DE FEBRERO DE 2020

Y DISCURSO DE CONTESTACIÓN
DEL ACADÉMICO DE NÚMERO,

EXCMO. SR. D. JUAN TAMARGO MENÉNDEZ



MADRID
2020

- © 2020: REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS DE ESPAÑA
© 2020 *del discurso*: JESÚS A. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES HERNÁNDEZ
© 2020 *de la contestación*: JUAN TAMARGO MENÉNDEZ

ISBN: 978-84-

Depósito Legal: M.xx-2020

Imprenta TARAVILLA, S.L.
Mesón de Paños, 6. 28013 Madrid

ÍNDICE

DISCURSO DEL EXCMO. SR. D. JESÚS ÁNGEL FERNÁNDEZ-TRESGUERRES HERNÁNDEZ

PREÁMBULO	00
INTRODUCCIÓN	00
MODELO DE HIPERPROLACTINEMIA	00
MODELOS DE HIPERTENSIÓN	00
ESTUDIO DEL ESTRÉS EN RATA WISTAR	00
CONEJOS (ANTICUERPOS Y OSTEINTEGRACIÓN)	00
TRANSPLANTE DE GLÁNDULA PARÓTIDA EN LA SILLA TURCA DEL ESFENOIDES EN RATA WISTAR	00
LA RATA WISTAR Y EL CRECIMIENTO.....	00
LA RATA ZUCKER Y LA ISQUEMIA HEPÁTICA	00
MODELOS DE ENVEJECIMIENTO.....	00
RATA WISTAR VIEJA DE 24 MESES.....	00
ESTUDIOS SOBRE LA ISQUEMIA CEREBRAL: RATA WISTAR DE VARIAS EDADES	00
MODELO DE RATÓN SAMP8.....	00
MODELOS DE REDUCCIÓN DE LA INGESTA CLÓRICA.....	00
MODELOS HUMANIZADOS.....	00
BIBLIOGRAFÍA	00
CONTESTACIÓN DEL EXCMO. SR. D. JUAN TAMARGO MENÉNDEZ ...	00

DISCURSO DE INGRESO PRONUNCIADO

POR EL

**EXCMO. SR. D. JESÚS ÁNGEL
FERNÁNDEZ-TRESGUERRES HERNÁNDEZ**

EXCMO. SR. PRESIDENTE DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
VETERINARIAS DE ESPAÑA

EXCMS. SRAS. Y SRES. ACADÉMICOS

SEÑORAS Y SEÑORES:

Preámbulo

Ante todo debo expresarles mi más profundo agradecimiento a todos aquellos que han hecho posible el gran honor de poder ingresar en el seno de esta corporación donde grandes figuras de las ciencias veterinarias pueblan sus bancos, y donde tantos maestros dictaron sus enseñanzas. Especialmente agradezco a aquellos académicos que con su firma avalaron mi presentación como candidato al sillón nº 35 de Ciencias afines (Medicina) que son el Prof. D. Guillermo Suárez Fernández, Prof. D. Juan Carlos Illera del Portal que me honran con su amistad, y sobre todo al Prof. D Juan Tamargo Menéndez compañero y amigo desde hace muchos años del claustro de la Facultad de Medicina con el que hemos desarrollado varias importantes colaboraciones en investigación y sobre todo que me ha prestado su inestimable ayuda en el libro sobre Fisiología Humana en el área cardiovascular actuando desde el principio como director adjunto en dicha área.

Cuando uno tiene la fortuna de alcanzar las metas mas altas en su carrera universitaria, debe haber aprendido por el duro camino que necesariamente habrá recorrido, que ello solo es posible si se cuenta con ayuda suficiente, se trabaja sin descanso y se tiene una gran dosis de suerte.

Mi ayuda comienza desde la infancia y adolescencia cuando mis padres me inculcaron el máximo aprovechamiento del tiempo, el amor al trabajo, la honestidad por encima de todo y la entrega a los demás, que ellos siempre predicaron con su ejemplo dándonos a mí y a mis hermanos la mejor formación que entonces era posible aun a costa de grandes sacrificios y privaciones personales. Especialmente importante fue el esfuerzo para que aprendiésemos idiomas, comenzando por el alemán y continuando por inglés y francés al haber sido mi padre un adelantado a su tiempo en reconocer la importancia del valor de los mismos. Quiero agradecerles hoy aquí públicamente todos sus desvelos y afirmar que una parte muy importante del mérito de haber llegado a catedrático de la Facultad de Medicina y de haber sido recibido hoy en esta Academia se lo debo a ellos.

Y por supuesto la posibilidad de haber completado mi formación científica en Hamburgo (Alemania) y haber sido secretario general del comité de hormonas esteroides y de hormonas y cáncer entre 1986 y 2006, y de haber sido presidente de todas las academias de Medicina de Europa entre 2012 y 2014.

En 1972 me incorporé a la cátedra de Endocrinología Experimental de la Facultad de Medicina, con mi maestro el Prof. Alberto Oriol Bosch recientemente fallecido, donde pude iniciar primero y desarrollar después mi labor docente e investigadora bajo su experta dirección y donde gracias a cuyo voluntario traslado a Cataluña para incorporarse a la Biopolítica catalana, me dejó libre el camino para acceder a la cátedra de Endocrinología Experimental que él desempeñaba desde 1970, y que había sido recreada en 1969 por la Universidad Complutense a instancias de D. Antonio Gallego y D. José Botella por entonces rector de dicha Universidad en memoria de la de Endocrinología que anteriormente ocupara el Dr. Gregorio Marañón. Esa cátedra se transformó en Fisiología humana y es la que he desempeñado durante todos estos años.

El Prof. Oriol ha sido sin duda quien más ha contribuido a mi desarrollo científico pero también tengo que agradecer las ayudas prestadas por el Prof. Gallego en el departamento de Fisiología

donde he desarrollado mi actividad docente e investigadora desde finales de los años 70 del pasado siglo y por los Profs. Jürgen Tamm y Belisario Lisboa así como el Prof. Klaus Dieter Voigt de la segunda clínica médica del hospital Eppendorff de Hamburgo (Alemania) que tanto contribuyeron a mi proyección internacional.

Mención especial debo necesariamente también hacer a todos mis compañeros y colaboradores de todos estos años que con su dedicación, empeño y buen hacer, han hecho posible la realización de la inmensa mayoría de los trabajos de investigación:

Las Dras. Ana Esquifino, Asunción López-Calderón, María Ángeles Villanua, Victoria Cachofeiro, Carmen Ariznavarreta, Alicia Tejero y Dolores Vaticón, los Dres. Vicente Lahera, Javier Rodríguez, Basilio Moreno y el Dr. Jesús Devesa de la Universidad de Santiago, con el que realizamos unos estudios muy importantes sobre el crecimiento en los años 90, uno de los temas que han dado lugar a muchos trabajos científicos y a tantos otros cuyo trabajo ha sido esencial y sin los cuales no habría sido posible mi presencia aquí hoy.

En el ámbito del envejecimiento la ayuda mas importante ha corrido a cargo de las profesoras Elena Vara, Carmen Ariznavarreta y Lisa Rancan y del profesor Sergio Paredes Rollano.

El gran honor de poder acceder a este sillón de ciencias afines (medicina) de la Real Academia de Ciencias Veterinarias del que hoy tomo posesión y que tanta responsabilidad supone, ha sido posible al pasar a la situación de académico supernumerario por voluntad propia el Prof. D. Manuel Escudero Fernández, gran figura de la ginecología española con una extraordinaria trayectoria tanto docente como investigadora en el marco del servicio de Ginecología del Hospital Clínico de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense que hizo posible en su día su ingreso en la Real Academia Nacional de Medicina de España y después en esta Academia de Ciencias Veterinarias. Quiero que quede patente mi agradecimiento.

Y por supuesto tampoco hubiera sido posible alcanzar éste lugar, al lado de tantas figuras ilustres de la veterinaria española, sin

el constante aliento, cariño y comprensión de mi mujer Carmen, que ha tenido que soportar con paciencia y alegría la a veces excesiva dedicación al trabajo. Junto a ella, mis hijos Ana y Alberto y mis nietos Carmen, Sara, Teresa y Pedro que dan razón de ser a mi existencia. También agradezco de corazón a mis hermanos, al resto de mi familia, carnal y política, y a mis amigos que me han proporcionado en todo momento el apoyo necesario para trabajar con alegría.

Introducción

La investigación biomédica viene utilizando modelos animales desde hace más de un siglo, para poder estudiar tanto el origen como la patogenia y también el posible tratamiento de muchas enfermedades. La posibilidad de probar en un animal entero y vivo la acción de un medicamento ha sido la primera línea de actuación en la evaluación de los fármacos desde hace mucho tiempo. En algunos casos y por selección genética se pueden llegar a desarrollar animales con una predisposición a alguna enfermedad (hipertensión, ictus) o a un envejecimiento mas acelerado (caso del ratón SAMP8) lo que facilita su uso en casos concretos.

También y mucho más recientemente, el ratón permite el desarrollo de modelos a los que se le pueden añadir algunos genes (animal transgénico) o quitárselos (KO) para mejor estudiar una patogenia o una vía metabólica. Incluso, de ver cómo se puede aumentar la resistencia a los tumores.

Sin embargo uno de los problemas que aparece a menudo, es que ni los tejidos son idénticos en estos animales a los del hombre ni lo son tampoco en algunas ocasiones los procesos metabólicos a que se ven sometidos los fármacos objeto de investigación por lo que a veces un medicamento que funciona perfectamente en el ratón no lo hace en el humano. Por ello el último desarrollo en el ámbito de los modelos animales supone la posibilidad de intercambiar algunos genes del ratón por otros de origen humano «humanizando el modelo» lo que posibilita el uso de estos tejidos

como si fuesen humanos, pero sin las connotaciones éticas que aparecerían si los tuviésemos que obtener de personas.

Por otro lado es cada vez más evidente, que la separación de la Sanidad humana de la Sanidad animal o incluso de la vegetal es un hecho que no tiene sentido. Cada vez se habla más de una sanidad única (one Health) hasta el punto que ese es uno de los temas más importantes para la Federación de Academias de Medicina Europea (FEAM) que la ha tratado de forma monográfica ya en dos ocasiones en los últimos años y donde de facto se están intentando incorporar a las ya presentes academias de Medicina de varios países europeos también las de Veterinaria de dichos países incluyendo el nuestro, para formar de facto una unidad de actuación en el ámbito de la Salud.

Los saltos de especie en las infecciones que durante mucho tiempo apenas se habían considerado como posibles pero que se han dado recientemente de manera evidente con distintos elementos patógenos como la gripe aviar, con el SIDA y con la Enfermedad Respiratoria del Medio Oriente (MERS) así lo justifican. La posibilidad de que por esta vía se pueda llegar a desarrollar una nueva pandemia en un futuro próximo es suficientemente peligrosa y exige un abordaje más inclusivo.

A continuación pasaremos revista a algunos de los modelos animales que hemos utilizado a lo largo de nuestra actividad investigadora y también a los que pueden resultar más importantes en el futuro. El repaso va seguir un orden cronológico.

Modelo de hiperprolactinemia

Durante los años 70 se empezó a estudiar la infertilidad y se comenzaron a tratar aquellas mujeres que no eran capaces por si mismas de ovular para conseguir embarazos.

Para ello se empezaron a desarrollar primero métodos diagnósticos para determinar el origen de la infertilidad y poder así establecer el tratamiento adecuado para estimular la ovulación.

Por aquellos años se empezaron a desarrollar radioinmunoensayos que permitían la determinación de hormonas en sangre.

De esta forma pudo verse que una de las situaciones más comunes que generaba anovulación en gran cantidad de mujeres era la hiperprolactinemia, bien fuera esta de tipo yatrogénico o por la presencia de un microprolactinoma hipofisario.

Nuestro grupo decidió durante los años setenta del pasado siglo, estudiar el control de la secreción de gonadotropinas (LH y FSH) y el papel que podía desempeñar la prolactina como sustancia inhibidora de las mismas. Para poder estudiar este problema se necesitaba disponer de un modelo experimental de hiperprolactinemia que posibilitase su investigación.

Para ello utilizamos como abordaje más fisiológico la hiperprolactinemia experimental que se podía generar por el trasplante heterotópico de una hipófisis debajo de la capsula renal en la rata Wistar según la técnica de Mena y cols (1968). Al estar fuera de la influencia inhibitoria de la dopamina hipotalámica, la hipófisis trasplantada produce grandes cantidades de prolactina. Para evitar los posibles fenómenos de rechazo del trasplante se utilizaron hermanos de la misma camada como donantes y receptores. Y tampoco se dieron puntos de sutura para cerrar el ojal realizado en la capsula renal para evitar traumatismos que impidiesen el anclaje del tejido ectópico. Este modelo suponía la posibilidad de mantener niveles plasmáticos elevados de prolactina ya que como se ha dicho, al trasplantar una hipófisis fuera de su área de control inhibitorio dopaminérgico, comienza esta a secretar grandes cantidades de dicha hormona.

Se pudo comprobar que existían diferencias en función de la edad del animal objeto del trasplante y del sexo del animal. Sin embargo cuando el modelo se mantenía en el tiempo estas diferencias desaparecían. También se pudo ver que podíamos llegar a controlar el nivel de la hiperprolactinemia, trasplantando 2 o más hipófisis en vez de una. (Tresguerres y Esquifino, 1981, Oriol-Bosch *et al.*, 1982).

En todos los estudios que realizamos la hiperprolactinemia determinaba una disminución de los niveles de LH (Esquifino, 1979) que era mayor cuando la operación se realizaba en animales prepuberales, o sea cuando el eje hipotálamo hipófiso gonadal no estaba aún maduro.

Con este modelo se pudieron demostrar de manera evidente los efectos antigonadotrópicos de la hiperprolactinemia, como era el caso en humanos y al revés de lo que se había podido ver en otros modelos experimentales como era la hiperprolactinemia por estrogenización neonatal donde no se afectan las gonadotropinas probablemente por la incidencia de esta acción hormonal en un momento de inmadurez extrema del eje hipotálamo hipófiso gonadal.

El modelo resultó ser muy útil para ver los mecanismos de acción a través de los cuales se inhibían las gonadotropinas y que incluían efectos bloqueantes sobre la LHRH ejercidos a través de un incremento reactivo de la dopamina hipotalámica sobre la hipófisis ortotópica propia del animal. (Esquifino *et al.*, 1984. Fernandez-Ruiz *et al.*, 1984, 1987).

Modelos de hipertensión

La hipertensión es un grave problema médico que conduce a la aparición de alteraciones cardiovasculares como el ictus cerebral o los infartos de miocardio.

En los años ochenta estudiamos el papel de las prostaglandinas en el control de la tensión arterial para lo cual utilizamos un modelo experimental de hipertensión.

Cuando se coloca un clip de plata en la arteria renal de una rata Wistar de manera que se reduce de forma sustancial el flujo sanguíneo de la misma, el riñón responde aumentando la producción de renina para aumentar la angiotensina I primero y la 2 y 3 después con objeto de subir la tensión arterial y retener sodio y por consiguiente normalizar teóricamente el flujo de la

arteriola aferente. Este modelo que adoptamos entonces (Ruilope *et al.*, 1982a, b) se denomina modelo Goldblatt de dos riñones y un clip y se viene utilizando desde hace decenios como modelo de hipertensión.

Nosotros lo utilizamos entonces con la intención de investigar el papel de las prostaglandinas renales en el control de la Tensión Arterial y también el papel que podía jugar la alimentación en estos casos. Por ejemplo si a una rata con el clip ya colocado, donde se podía ver el incremento de la actividad de renina plasmática así como de aldosterona y donde se podía detectar un incremento tensional medido en la cola del animal, se le administraba una dosis elevada de ácidos grasos saturados (aceite de coco), la hipertensión empeoraba pues estas sustancias eran precursoras de leucotrienos o PGF2 alfa que son vasoconstrictores, pero si por el contrario la administración se hacía con ácidos grasos insaturados (aceite de girasol) la hipertensión mejoraba sustancialmente al ser estos compuestos precursores de las prostaciclinas que son vasodilatadoras. (Cachofeiro *et al.*, 1986, Tresguerres *et al.*, 1989).

Este modelo se utilizó asimismo para estudiar el efecto de los bloqueantes del enzima de conversión (IECAs) que se habían desarrollado en aquellos años (Lahera *et al.*, 1989) en presencia o ausencia de sobrecarga sódica, y de los bloqueantes del receptor de angiotensina 2 o de mineralcorticoides que se desarrollaron a continuación.

Estudio del estrés en rata Wistar

Para estudiar las interacciones entre el eje adrenal y eje hipotálamo hipófiso testicular en la rata Wistar utilizamos un modelo de estrés por inmovilización. La rata era colocada en un cilindro de metacrilato transparente que no le suponía ningún daño pero que le impedía moverse y por lo tanto generaba un estrés psicológico. Este modelo de estrés se llevaba a cabo colocando cada día en el cilindro al animal durante 6 horas, suspendido en el aire repitiéndose el proceso durante un total de 5 días. Al final de los cuales

se había producido una hiperplasia adrenal muy intensa, con un aumento de la secreción de corticosterona y con una disminución muy significativa de la secreción de testosterona por el testículo. El animal había perdido peso y estaba en situación catabólica evidente (López Calderón *et al.*, 1990, 1991).

El modelo nos permitió determinar los dos niveles de actuación del estrés sobre la función testicular. Uno ejercido directamente por la corticosterona sobre las células de Leydig y otra ejercida a nivel hipotalámico por la CRH sobre la LHRH.

Conejos (anticuerpos y osteointegración)

A lo largo de nuestra actividad investigadora hemos utilizado en varias ocasiones conejos para la obtención de anticuerpos específicos para realizar medidas mediante RIA de muchas hormonas.

Si la hormona frente a la que se querían obtener los anticuerpos tenía una estructura química con un bajo peso molecular, necesitábamos formar previamente un complejo con albumina bovina y con adyuvante de Freund para aumentar tanto su peso molecular como también su inmunogenicidad. De esta forma inyectando de forma repetida a los conejos dichos complejos, pudimos obtener anticuerpos específicos contra esteroides pero también frente a hormonas hipotalámicas de bajo peso molecular como la LHRH, la CRH, o la GHRH. Estos anticuerpos se utilizaron para desarrollar RIAs específicos para medir dichas hormonas.

También hemos utilizado conejos desde finales de los años noventa, para realizar estudios de osteointegración, para lo que utilizamos placas de titanio e implantes del estilo de los que utilizan los dentistas, para insertarlos en la tibia de conejos normales, o de conejas donde habíamos generado una osteoporosis mediante la castración y la alimentación baja en calcio. (Tresguerres *et al.*, 2002, 2003). Concretamente y dentro del área de investigación sobre el envejecimiento y el papel que en este proceso desempeñan las hormonas, que va a ser objeto de desarrollo más adelante, estudiamos el papel facilitador de la hormona de crecimiento

(GH) y de la melatonina y el resveratrol sobre el proceso de osteointegración, tanto en animales normales como osteoporóticos (Tresguerres *et al.*, 2005).

El efecto generado por la GH supone una aceleración significativa del proceso de incorporación del implante al hueso, lo que incluye tanto la reabsorción de hueso antiguo como la generación de hueso nuevo lo que acorta significativamente el tiempo necesario para considerar osteointegrado al implante. Ese hallazgo suponía de facto la posibilidad de utilizar GH para acelerar la osteointegración de los implantes odontológicos sobre todo en pacientes complicados como los que tienen osteoporosis, tal y como empieza poco a poco a emplearse actualmente.

Más recientemente estamos utilizando también conejos para estudiar la osteointegración tanto en la tibia como en la calota de materiales biocompatibles desarrollados en la facultad de Farmacia bajo la dirección de la Prof.^a Marita Valles. Ese estudio está actualmente en proceso, pero ya hemos podido comprobar una vez más como la GH es capaz de acelerar significativamente el proceso.

Transplante de glándula parótida en la silla turca del esfenoides en rata Wistar

Basándonos en los trabajos de un investigador español expatriado a México tras la guerra civil, el Doctor Ramón Álvarez Buylla pretendimos demostrar en la segunda mitad de los años 90 que la glándula parótida transplantada al lugar de asentamiento de la hipófisis en la silla turca esfenoidal era capaz de transdiferenciarse y convertirse en una auténtica hipófisis, dado que el Dr. Álvarez Buylla solamente había podido demostrar en perros, que estos recuperaban la fertilidad pero no disponía de la metodología necesaria para medir las hormonas hipofisarias. Para ello realizamos distintos abordajes.

El primero suponía transplantar una glándula parótida en la silla turca del esfenoides de la rata Wistar, para reproducir el modelo del Dr. Álvarez Buylla en perros, para lo que había que realizar

previamente una hipofisectomía. Había además que procurar que toda la vascularización que le llegase a la parótida transplantada lo hiciese exclusivamente a partir de la proveniente del hipotálamo, para lo que había que poner una lámina de silastic en la base para evitar que le llegase sangre sistémica de procedencia ósea. De esta manera al trasplante le llegaba sangre rica en hormonas hipotalámicas que actuaban como factores desdiferenciadores y rediferenciadores y hacían que la parótida se transformase al menos parcialmente en una hipófisis. Pudimos medir al cabo de algunos meses los niveles plasmáticos de LH y FSH y TSH y además la aparición de ciclos estrales en las ratas así transplantadas. También pudimos observar la respuesta de dichos trasplantes a un test de estímulo con LHRH observándose una respuesta de LH evidente.

Si el tejido transplantado era musculo, no ocurría este proceso y si se trataba de una glándula suprarrenal lo hacía solamente de manera parcial, por lo que la parótida era precisamente un tejido idóneo para que ocurriera esta transdiferenciación

Como el tema de las células madre residentes todavía no era bien conocido a mediados de los 90 y se planteaban por parte de los revisores algunas dudas metodológicas, como que no hubiésemos hecho una hipofisectomía completa en algunos casos, decidimos repetir el proceso de forma distinta, para lo que utilizamos procedimientos *in vitro*. Si cultivábamos tejido parotídeo neonatal en presencia de extractos hipotalámicos de rata a los pocos días observábamos la aparición de hormonas hipofisarias como LH y TSH. Si en vez de utilizar extractos hipotalámicos de rata utilizábamos mezclas de hormonas sintéticas hipotalámicas como LHRH, TRH, GRH, y CRH también conseguíamos el mismo proceso de secreción de hormonas hipofisarias en pocos días y este proceso era además dosis dependiente. Si bien la efectividad del proceso era mucho menor probablemente porque en los extractos hipotalámicos además de las hormonas antes mencionadas había algún otro factor desconocido que contribuía de una manera importante a su transdiferenciación. (Tresguerres *et al.*, 1999a). Para confirmar el proceso, si las parótidas en cultivo eran tratadas con extractos hipotalámicos y se añadía un

anticuerpo específico contra LHRH no aparecía LH o lo hacía en una proporción muy inferior, lo que indicaba claramente el papel que dicho factor desempeñaba en la acción transdiferenciadora.

Como último abordaje experimental para demostrar el proceso utilizamos pellets de liberación lenta de hormonas hipotálamicas (LHRH y GHRH) que insertábamos directamente en este caso en la glándula submaxilar «in situ», observando mediante técnicas de biología molecular, como se producía la transformación del tejido salival en tejido hipofisario. (Tresguerres *et al.*, 1999b). Quedaba pues demostrado el poder transdiferenciador de las hormonas hipotálamicas y se daba así una explicación adicional al necesario papel del sistema portal hipotálamo hipofisario como manera de evitar el paso a la circulación sistémica de unas hormonas hipotálamicas que eran capaces de inducir transdiferenciación tisular.

La rata Wistar y el crecimiento

La rata Wistar de 3 meses de edad ha sido utilizada por nuestro grupo como modelo para el estudio del control de la secreción de GH (Devesa *et al.*, 1992) e incluso utilizando la microknemometría para ver como el proceso de crecimiento no es una función lineal sino oscilante.

La knemometria (Hermanussen *et al.*, 1998) se utiliza en humanos para estudiar el crecimiento tibial en niños mediante la medida diaria de la longitud de esta. De esta forma se pudo ver que el proceso de crecimiento no era un proceso continuo sino que sigue un patrón característico con incrementos seguidos de periodos estables o incluso retrocesos, en función del crecimiento de los grupos de condrocitos de los cartílagos de crecimiento de los huesos largos. O lo que es igual que cuando el crecimiento se estudia de manera muy detallada deja de comportarse de forma lineal y lo hace de manera oscilante mucho más compleja.

Este proceso se da asimismo en la rata en crecimiento y se puede estudiar utilizando un aparato adaptado denominado microk-

nemometro que permite medir también el crecimiento tibial en la rata, y no solo diariamente sino incluso cada 4 horas. (Hermanussen *et al.*, 1995, 1996). Se obtiene por lo tanto un patrón oscilatorio en el crecimiento que no había sido descrito previamente. Pudimos así estudiar el crecimiento en machos y hembras observando un patrón dimórfico que se asociaba también parcialmente con el peso (Rol de Lama *et al.*, 2000).

Estudiamos además el efecto que la modificación del sexo hipotalámico, tanto la androgenización neonatal de hembras como la estrogenización neonatal de machos, ejercía sobre el patrón dimórfico antes descrito Y efectivamente dependiendo de las características sexuales generadas neonatalmente en el hipotálamo e independientemente de las hormonas esteroides sexuales correspondientes a cada sexo el crecimiento era dependiente fundamentalmente del sexo hipotalámico (Rol de Lama *et al.*, 2001).

La rata Zucker y la isquemia hepática

El hígado graso está presente en un 20% de los potenciales donantes para un trasplante hepático, lo que supone un aumento del riesgo de lesión en los hepatocitos tras el proceso de isquemia reperusión a que se ve sometido el órgano trasplantado. Por ello resulta del máximo interés cualquier intervención que pueda llegar a mejorar el resultado de dicho trasplante en presencia de un hígado graso.

La rata Zucker constituye un modelo de rata obesa con presencia de hígado graso (Gasbarrini, 1998) ya desde los primeros meses de vida. Estudiamos por tanto el problema de la supervivencia de este tipo de tejido cuando se sometía a un proceso de isquemia reperusión, y de qué forma se podían mejorar los resultados

Concretamente se investigó el efecto de la administración de 10 mg/Kg por vía oral o intraperitoneal de melatonina sobre la función hepática, sobre el estrés oxidativo, sobre la inflamación y la apoptosis generados tras 35 minutos de isquemia caliente en un grupo de ratas Zucker de 6 meses de edad. Se realizaba

una ligadura del pedículo vascular del hígado que se mantenía cerrado 35 minutos observándose un cambio de color muy evidente en el tejido hepático que se restauraba al abrirlo. A las 36 horas de dicha operación se analizaron los niveles de transaminasas (ALT, AST) en el plasma de los animales así como del contenido hepático de ATP, MDA, hidroxialkenales, metabolitos de NOx, antioxidantes así como marcadores de apoptosis (Kireev *et al.*, 2013a, b).

Se pudo observar que el pretratamiento con melatonina era capaz de disminuir significativamente el daño hepático generado por la isquemia reperusión como podía verse por la disminución de los niveles de transaminasas, del estrés oxidativo, de los marcadores de apoptosis y por el incremento de ATP que ocurría en los hepatocitos. La administración de melatonina ejercía un efecto beneficioso significativo del que también pudimos investigar a través de qué mecanismos ocurría. Estos resultados nos permitieron concluir que la melatonina podía ser un elemento de mucha importancia en los pacientes que recibían hígados grasos y por lo tanto órganos subóptimos en los trasplantes. La rata Zucker supuso un modelo muy adecuado para estudiar los efectos de la isquemia reperusión en el hígado graso.

Modelos de envejecimiento

El envejecimiento determina un aumento de los procesos metabólicos oxidativos con el acúmulo consiguiente de radicales libres en los tejidos. Esto produce cambios en numerosos órganos y sistemas, comprometiendo entre otros a los órganos relacionados con el sistema endocrino. Además el sistema endocrino juega a su vez un importante papel en este proceso.

Las alteraciones cardiovasculares y en particular las disfunciones vasculares son juntamente con las lesiones degenerativas del SNC algunas de las causas principales de muerte y de enfermedad e incapacidad en nuestra sociedad. Estas enfermedades son mas frecuentes en la edad avanzada, y en la mujer a partir de la menopausia. Otros órganos y tejidos muestran también signos

de envejecimiento, como el hígado, el sistema óseo, el sistema inmunitario o la piel.

En estas etapas de la vida, los niveles de varias hormonas disminuyen de forma significativa siendo las más importantes la hormona de crecimiento (Growth Hormone, GH), la melatonina, y las hormonas sexuales (Roshan *et al.*, 1999, Toogood and Shalet 1998) y en la mujer menopáusica especialmente los estrógenos.

Algunas hormonas de las que disminuyen con la edad tienen efectos importantes sobre los radicales libres, por lo que su disminución se acompaña del aumento de los parámetros indicadores de inflamación y estrés oxidativo, tales como, el citocromo C citosólico el NO, el CO y el LPO, o la disminución de otros que protegen de la apoptosis como la producción celular de ATP, la Bcl2, las glutatión reductasa, peroxidasa o S-transferasa, o el citocromo C mitocondrial.

En el envejecimiento se incrementa también la llamada «muerte celular programada» o apoptosis lo que se evidencia por el incremento de los nucleosomas. Algunas hormonas regulan el balance entre proteínas inductoras de apoptosis (Bax) y represoras de la misma (Bcl2) de forma muy evidente, por lo que su administración exógena es capaz de mejorar muchas de las funciones que se alteran con el envejecimiento, siendo incluso capaces de hacer parcialmente reversibles algunas de ellas.

Para entender el papel beneficioso de la GH, la melatonina y los estrógenos en el organismo, estudiamos su forma de intervenir en estos hechos y los resultados de su administración y utilizamos para ello dos modelos de envejecimiento:

La rata Wistar de 24 meses de edad en donde las hembras pueden ser intactas o castradas a los 12 meses para tener un modelo experimental de menopausia y el Ratón SAMP8 (con envejecimiento acelerado) de 10 meses de edad.

Las hormonas del eje somatotrofo, GHRH, GH, IGF-I que son responsables del crecimiento somático, tienen también una serie

de funciones metabólicas como son el estímulo del desarrollo muscular, o el favorecer la pérdida de tejido graso, o bien aumentar la densidad mineral ósea y también incrementar la producción de NO endotelial con la consiguiente mejora de la vasodilatación. Los pacientes con déficit de GH del adulto presentan una menor producción de NO en el endotelio vascular y padecen una disfunción endotelial asociada también a alteraciones del perfil lipídico, situación que en su conjunto da lugar a un aumento de la morbi mortalidad cardiovascular. Por otro lado cuando se instaura el tratamiento sustitutivo con la hormona de crecimiento en los individuos que presentan esta deficiencia de GH, el estrés oxidativo disminuye, la reactividad vascular mejora, ya que la respuesta vasodilatadora a la acetilcolina o al incremento de flujo aumenta significativamente después de tres meses de tratamiento (Christ *et al.*, 1999, Castillo *et al.*, 2005) y esto sucede independientemente del perfil lipídico de los individuos. Estos pacientes con deficiencia de GH también presentan alteraciones en la estructura vascular previas a la aparición de la lesión arteriosclerótica propiamente dicha, que regresan tras el tratamiento con GH (Pfeifer *et al.*, 1999).

Al igual que ocurre en los adultos con déficit de GH, los ancianos presentan una disminución de la masa magra y un aumento de la proporción de tejido adiposo, con la consiguiente reducción de la fuerza muscular y de la capacidad para realizar ejercicio físico.

La GH se sabe que ejerce también efectos importantes a nivel cerebral (Nyberg, 2000). Aumenta la capacidad psicológica en adultos con déficit de GH (Bauman *et al.*, 1995, Gustafsson *et al.*, 1999) y se han descrito también efectos beneficiosos sobre memoria, alerta mental, motivación y capacidad de trabajo. La terapéutica con GH modifica asimismo los niveles de neurotransmisores del LCR.

Se ha descrito la presencia de IGF-I (Torres Alemán *et al.*, 1994) sus proteínas transportadoras y su receptor en el cerebro y cerebelo y se ha sugerido que desempeña un papel trófico en el desarrollo de los mismos. La disminución de GH - IGF I puede relacionarse con una disminución de la aparición de nuevas neuronas en la

vejez. La ausencia de IGF-I (como la que ocurre en los ratones KO para IGF1) da lugar a hipomielinización neural, disminución del número de oligodendrocitos y reducción del tamaño total cerebral (Beck *et al.*, 1995). El número de neuronas se ve afectado por el envejecimiento y el tratamiento con GH lo evita (Azcoitia *et al.*, 2005).

Otras hormonas con efectos beneficios claramente establecidos en el organismo en general y en el cerebro en particular son los estrógenos, donde también ejercen funciones neuroprotectoras (Azcoitia *et al.*, 1999, García Segura *et al.*, 2001). La disminución de la secreción de estrógenos durante la menopausia determina una alteración del perfil lipídico y un aumento de las alteraciones cerebro-vasculares (Lüscher *et al.*, 1996). El tratamiento con estrógenos mejora todos estos procesos. La deficiencia de estrógenos aumenta el riesgo cardiovascular en la mujer menopáusica (Wenger 2002), incrementándose el riesgo de muchas otras enfermedades en esta época (Burger *et al.*, 2002).

Además los estrógenos han demostrado poseer efectos antioxidantes *in vitro* sobre la oxidación de los fosfolípidos de membrana. También se ha descrito que existe una correlación inversa entre la secreción los estrógenos y la producción de peróxidos lipídicos con la edad. Los estrógenos, al igual que la vitamina E, poseen actividad antioxidante por su capacidad de inactivar ROS al actuar como donantes de hidrógeno gracias a su anillo fenólico hidroxilado.

Hay muchas evidencias que sugieren que el declive en la función ovárica que tiene lugar en la menopausia se asocia a un incremento espontáneo de citoquinas pro-inflamatorias. Las más importantes son la IL-1, la IL-6, y el TNF- α . La deficiencia de estrógenos también parece aumentar la respuesta inflamatoria celular a través de estas citoquinas mediante el estímulo del número de receptores y otros cofactores, potenciando de esta forma sus efectos (Pfeilschifter 2002).

La melatonina es la principal hormona de la glándula pineal, y es crítica en el control fisiológico de los ciclos circadianos y

estacionales. Su secreción, que es fundamentalmente nocturna, disminuye con la edad en varias especies animales incluido el ser humano. Además la melatonina elimina radicales hidroxilo y peróxido al incrementar la eficiencia de la cadena de transporte de electrones de la mitocondria (Reiter *et al.*, 1997), consecuencia de lo cual es la reducción de producción de radicales libres. Se ha comprobado que la melatonina reduce con más efectividad que otros antioxidantes la formación de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina, que son marcadores de daño al ADN.

Los cambios asociados a la edad que sufre el sistema inmunitario se relacionan con el aumento de la morbi-mortalidad por el incremento de susceptibilidad a la infección, cáncer y enfermedades autoinmunes. Las funciones del sistema inmunitario más alteradas con la edad son aquellas relacionadas con los linfocitos T (Malaguarnera *et al.*, 2001, Pawelec *et al.*, 2002). También se producen cambios en las células Natural-killer (NK) (De la Fuente *et al.*, 2001). Existen diferencias en la función inmunitaria de machos y hembras, probablemente debido a la acción de las hormonas sexuales (Gaillard and Spinedi, 1998). Por tanto, parecía interesante estudiar la evolución de la capacidad funcional del sistema inmunitario con la edad, así como las diferencias entre machos, hembras y hembras ovariectomizadas, con el fin de establecer el papel de los estrógenos en dicho proceso. Asimismo, resultaba muy interesante estudiar el efecto de la administración sustitutiva de estrógenos a hembras ovariectomizadas o en su defecto de antioxidantes (De la Fuente *et al.*, 2002). Por otra parte, se sabía que la GH y su mediador IGF-1 ejercen acciones sobre las células del sistema inmunitario y la respuesta inflamatoria (Heemskerk *et al.*, 1999; Jeay *et al.*, 2002) por lo que su uso también podía reportar resultados interesantes.

Los fitoestrógenos son compuestos derivados de las plantas que tienen estructuras semejantes a los estrógenos, con los que comparten algunas de las acciones hormonales. Las isoflavonas son un grupo de fitoestrógenos que están siendo muy estudiadas pues parecen tener efectos favorables sobre la salud (Adlercreutz *et al.*, 1999). Las isoflavonas parecen inhibir los procesos de pe-

roxidación propios de la autooxidación del ácido linoléico, de la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad y la peroxidación de las membranas microsomales y mitocondriales.

El estrés oxidativo se ha implicado como responsable de muchas de las alteraciones que tienen lugar en el envejecimiento y la menopausia, y el mecanismo de acción podría ser el incremento de peróxidos lipídicos y/o la deficiencia de mecanismos antioxidantes de defensa por eso resultaba ser de mucho interés el estudio de todos estos procesos.

También la piel está afectada por la edad, y dicho efecto es más evidente en hembras carentes de estrógenos. Es uno de los órganos diana no reproductivos más importantes donde los estrógenos tienen efectos significativos (Phillips *et al.*, 2001). Histológicamente, el cambio que más llama la atención es el adelgazamiento de la unión dermo-epidérmica y la pérdida de volumen dérmico. En la dermis, los niveles de colágeno y sustancia fundamental están disminuidos, conduciendo a cambios en el grosor cutáneo. Dentro de estos cambios también existe una disminución de la celularidad (Yaar and Gilchrest, 2001). En la epidermis existe una reducción del número de células de Langerhans y de melanocitos, así como de la síntesis de melanosomas, que lleva a una disminución de la pigmentación. El número de folículos pilosos disminuye con la edad, pero su estructura permanece inalterable (Montagna and Carlisle, 1990).

La piel es uno de los órganos diana de la GH (Thiboutot, 1995) y por ejemplo la administración de GH en niños con déficit de la hormona, aumenta el grosor de la dermis y disminuye la rigidez cutánea (Schulman, 2002). Estos efectos parecen mediados por la interacción con los receptores de GH que se expresan en la epidermis, estructuras anexas, fibroblastos dérmicos, adipocitos, células de Schwann y células musculares (Oakes *et al.*, 1992, Tresguerres, 2006).

Con la menopausia la piel parece adelgazar, hecho que parece estar relacionado con la disminución del contenido colágeno cu-

táneo (Ravnikar *et al.*, 1985). También disminuye la retención de agua y aumentan la sequedad y las arrugas finas (Callens *et al.*, 1996, Dunn *et al.*, 1997). El envejecimiento en mujeres sanas se asocia con una disminución de la tasa de reparación de heridas, con disminución de los niveles de colágeno tipo 1. Todos estos cambios relacionados con la edad pueden ser revertidos mediante la administración de terapia hormonal sustitutiva con estrógenos (Ashcroft *et al.*, 1997).

Rata Wistar vieja de 24 meses

La rata Wistar de 24 meses tanto macho como hembra ha sido muy utilizada por nosotros en el estudio del proceso de envejecimiento y para estudiar también los efectos de la administración de hormonas u antioxidantes. Las hembras las hemos estudiado a los 24 meses como animales intactos o bien los hemos castrado a los 12 meses para obtener un modelo de menopausia al eliminar totalmente los estrógenos en un animal que aunque permaneciendo intacto se convierta a partir de los 15 meses en estéril, sin embargo sigue manteniendo la producción estrogénica y de hecho se beneficia mucho de ella. Supone el mejor modelo para el estudio del envejecimiento de múltiples tejidos. La edad de 24 meses corresponde en la especie humana con los 65-70 años de vida y podemos utilizarla tanto para el estudio en machos como en hembras. En estas últimas si procedemos a la castración a la edad de 12 meses tenemos un equivalente a la menopausia en la mujer, ya que la rata al revés que esta, como acabamos de decir mantiene la producción estrogénica durante toda su vida aunque a partir de los 16 meses se convierta ya en estéril. Por eso la utilización de ratas hembras intactas o castradas a los 12 meses de edad nos permite ver con claridad el efecto del déficit estrogénico sobre el funcionamiento de multitud de tejidos.

Hemos visto como aumenta con la edad el estrés oxidativo, la inflamación y la apoptosis en varios tejidos de dichos animales, lo que se asocia con un deterioro evidente de la función biológica, y como somos capaces con la utilización de GH, melatonina

o estrógenos de restablecer niveles mas bajos de oxidación y por consiguiente conseguir una mejoría clínica de la función fisiológica del órgano correspondiente (Castillo *et al.*, 2005a, b). Las hormonas que han sido utilizadas han sido la GH, melatonina, estrógenos y andrógenos, habiendo utilizado también en algunos casos antioxidantes como el Resveratrol y el Xanthohumol En todas las situaciones se ha visto que estos procesos de deterioro son reversibles al revés de lo que se venía diciendo hasta ahora.

Estudios sobre la isquemia cerebral: rata Wistar de varias edades

En este modelo de rata Wistar se estudió además la lesión que generaba el bloqueo de la arteria cerebral media derecha sobre el cerebro y más concretamente sobre la corteza y el hipocampo. De entrada al realizar el abordaje experimental en ratas de diferentes edades nos encontramos que el mismo tipo de cirugía, la introducción de un catéter de teflón a través de la carótida para obstruir la entrada de dicha arteria, generaba lesiones cerebrales más importantes en las ratas según iba aumentando la edad de los animales. Se utilizaron ratas de 3, 6 y 14 meses y se analizaron como siempre los parámetros de estrés oxidativo, inflamación y apoptosis a las 24 horas de la lesión y a los 7 días (Paredes *et al.*, 2015).

En las ratas de 14 meses, precisamente en las que se generaba una lesión isquémica mucho más importante, estudiamos el efecto de la administración previa de melatonina encontrando, que gracias a sus efectos antioxidantes y antiinflamatorios la lesión disminuía de manera muy importante tanto a las 24 horas de la cirugía como a los 7 días. Un efecto similar aunque de menor intensidad se pudo obtener cuando la administración de melatonina se realizó, una vez establecida la lesión isquémica cerebral (Rancan *et al.*, 2018).

De nuevo quedaba demostrado que los efectos antioxidantes y antiinflamatorios de la melatonina podían suponer un elemento protector o terapéutico en las isquemias cerebrales.

Modelo de ratón SAMP8

Durante las últimas décadas se han venido utilizando distintos modelos experimentales para entender mejor los mecanismos subyacentes al envejecimiento en diversos tejidos. Dentro de los modelos disponibles los ratones con envejecimiento acelerado (senescence-accelerated mice SAM) han demostrado su utilidad en muchos ámbitos del envejecimiento. El modelo SAMP 8 se describió por primera vez hace más de treinta años (Takeda *et al.*, 1981), e incluye varios subgrupos. Los que presentan realmente envejecimiento acelerado SAMP (prone) y los que son resistentes a dicho envejecimiento (SAMR) (resistant) (Takeda, 2009) y suelen ser utilizados como sus controles. En estudios anteriores se vio como los ratones SAMP presentaban un comienzo temprano de alteraciones vinculadas con estrés oxidativo, inflamación y apoptosis que conducían a la aparición de enfermedades asociadas a la edad incluyendo una menor esperanza de vida (Takeda *et al.*, 1981, Takeda, 2009). De entre todos los subgrupos SAMP es precisamente el SAMP8 el que muestra más deterioro cognitivo y de memoria (Flood and Morley, 1993), degeneración cerebelar y cambios en la regulación neuroquímica (Takeda, 2009), desarrollando un fenotipo muy marcado entre los 5 y los 10 meses de vida.

Además parece desarrollar cambios parecidos a los que aparecen en pacientes con la enfermedad de Alzheimer, como la deposición de proteína β -amiloide, pérdida neuronal y espongiosis. Como consecuencia ha sido muy utilizado por nuestro grupo para el estudio de los cambios que aparecen en diversos tejidos del corazón (Forman *et al.*, 2010), páncreas (Cuesta *et al.*, 2010), cerebro (Tresguerres *et al.*, 2012) hígado (Cuesta *et al.*, 2010) y pulmón (Puig *et al.*, 2016) y su posible modificación por diversos tratamientos tales como la melatonina, el resveratrol (Gines *et al.*, 2017), los estrógenos o los fitoestrogenos (Pérez Martín *et al.*, 2005).

Concretamente merece destacarse el efecto que tanto la melatonina como la GH ejercen sobre el páncreas endocrino disminuyendo por un lado la resistencia periférica a la insulina a la vez que disminuyen el estrés oxidativo, la inflamación y la apoptosis

a nivel de las células de los islotes pancreáticos mejorando de esta forma las condiciones de funcionamiento del mismo.(Cuesta 2011 a,b). De esta manera si el tratamiento se pone en marcha pronto se puede evitar que de la situación de resistencia insulínica se pase a otra de diabetes tipo 2

En consecuencia,el SAMP8 es un modelo muy adecuado para investigar las diferentes vías metabólicas afectadas por el envejecimiento y presenta frente a la rata dos ventajas muy importantes: Por un lado que solo hay que esperar 10 meses para trabajar en vez de los 24 meses de la rata Wistar, y que por su pequeño tamaño necesita de menores dosis de hormonas o antioxidantes,que tiene un alto valor y por lo tanto reducen el presupuesto.

Modelos de reducción de la ingesta calórica

Hace más de 80 años que se sabe que la reducción de la ingesta calórica aumenta la esperanza de vida en distintos tipos de animales, Sin embargo no se acababa de aceptar que esta maniobra fuera también aplicable a los humanos por lo que se inició hace mas de 20 años un experimento con monos rhesus, cuyos resultados se han publicado hace pocos años (Colman *et al.*, 2009) A lo largo de 20 años el 50 % de los animales (alrededor de 40) se alimentaron sin ninguna restricción y el otro 50% con una disminución del 30%.del contenido calórico. En ese tiempo el 37 por ciento de los que siguieron una dieta normal sin limitaciones murieron de enfermedades relacionadas con la edad, pero solamente lo hicieron el 13 por ciento de los monos que siguieron la dieta restringida. Además y como hecho muy significativo, de los monos con dieta sin control 11 desarrollaron alteraciones metabólicas pre-diabéticas y 5 diabetes completa mientras que de los que siguieron la dieta restringida ninguno llegó a desarrollar ninguna de estas enfermedades. También disminuyeron en un 50% la incidencia de enfermedades cardiovasculares y tumores (Colman *et al.*, 2009). En general, los animales del grupo sometido a dieta restringida, tienen la temperatura corporal más baja, niveles más bajos de insulina y niveles más altos de DHEAS y parecían biológicamente

más jóvenes (Lane *et al.*, 2002). Estos datos parecen ser extrapolables a los humanos como demuestra el Estudio Longitudinal del Envejecimiento en Baltimore, en donde participaron 700 hombres. (Roth *et al.*, 2002).

Aunque las personas, se puedan beneficiar de la restricción calórica, la mayoría no estaría dispuestas a reducir su consumo calórico diario en un 30%. Por eso, se han intentado buscar equivalentes que imitasen los efectos de esta maniobra sin tener que hacer dieta (Weindruch, 1996, 2001).

Los cambios observados con la reducción calórica no se sabe si dependen de dichas calorías o más bien de la disminución de algunos componentes específicos de la dieta. El grupo del Dr. Barja en la facultad de biológicas de la UCM (Sanz *et al.*, 2004) hizo pruebas manteniendo una dieta isocalórica pero disminuyendo el contenido en grasas o hidratos de carbono sin que ocurriera nada. Sin embargo al disminuir un 30% el aporte de proteínas se produjo una disminución del 30-40% en la producción mitocondrial de especies reactivas de oxígeno y en las lesiones oxidativas en el DNA mitocondrial similares a las obtenidas con restricción calórica.

Esto es especialmente interesante puesto que conseguir que los humanos adultos hagan una dieta con una disminución del aporte proteico es mucho más factible que llevar a cabo una reducción calórica global.

En el año 2001 se descubrió que la restricción calórica activaba un gen regulador, llamado SIR2, que producía una proteína llamada Sirtuina 2, que estaba relacionada con la extensión de la esperanza de vida en los roedores (Guarente, 2001) hasta el punto que si se realiza una dieta hipocalórica en ratones carentes del gen de la sirtuina, no aparece en estos ningún efecto beneficioso.

Los polifenoles presentes en el vino tinto como el resveratrol son capaces también de activar dicha enzima, la Sir2, lo que permite aumentar la supervivencia. Por lo tanto el siguiente paso ha debido ser demostrar que el resveratrol a dosis bajas es capaz de activar a la Sir2 también en los mamíferos, como hemos visto en

resultados de nuestro laboratorio. Nuestro grupo ha demostrado que la administración de resveratrol no solo disminuye una serie de marcadores de estrés oxidativo como el TNF alfa, algunas interleuquinas o la presencia de grasas oxidadas (lipoperóxidos), sino que también potencia la producción de sustancias antiapoptóticas. Además disminuye el grado de envejecimiento cerebral (Gines *et al.*, 2017) al igual que ocurre con el xanthohumol, polifenol procedente del lúpulo y presente en la cerveza (Rancan *et al.*, 2017).

Algunos científicos especulan con la posibilidad de aumentar la esperanza de vida de las personas a través de la administración de resveratrol e incluso ya hay algunos investigadores que lo están tomando en cápsulas. Aunque no tenemos todavía datos concluyentes de que existan solamente efectos beneficiosos y no otros menos agradables, lo cierto es que se abre un futuro muy prometedor para mejorar nuestra salud gracias a la restricción proteica y también con la administración de resveratrol y otros derivados polifenólicos.

También se han intentado otros abordajes, utilizando dietas veganas en un intento de reducir también los niveles de insulina y de IGF1 como mecanismo para aumentar la supervivencia (McCarty, 2003).

Modelos humanizados

Aunque los primeros pasos en la tecnología de la transferencia de genes se dieron ya en los años 70 los primeros ratones transgénicos no se conocieron de una manera general hasta que Palmiter introdujo el gen de la GH humana (growth hormone) en cigotos de ratón por medio de la microinyección de sus genes en sus pronúcleos en el año 1981, y las crías transgénicas demostraron tener un enorme potencial de crecimiento. Las técnicas para la obtención de transgénicos se han convertido hoy en día en elementos de suma importancia como herramientas de investigación, ya que permiten abordajes experimentales que no pueden llevarse a cabo ni con las cepas salvajes ni con los experimentos *in vitro*.

Los ratones transgénicos se obtienen habitualmente por dos técnicas diferentes:

1. Microinyección de varios tipos de constructos de DNA en los pronúcleos de cigotos y,

2. Transfección de vectores específicamente diseñados en células madre embrionarias de ratón (Células ES) y la subsecuente inyección de dichas células genéticamente modificadas en blastocitos que se transfieren después a ratonas pseudopreñadas.

Durante los últimos 30 años se ha desarrollado una amplia colección de métodos que han permitido diseñar una extensa variedad de modificaciones específicas en sus genomas o bien han sido transfectados con genes procedentes de tejidos humanos para poder ser utilizados bien sea en investigación básica o farmacéutica o en investigación clínica o en desarrollo de I+D.

Entre los más importantes tipos de ratones modificados están distintas versiones de animales que o bien tienen introducido un gen nuevo (knock-in) o bien tienen suprimido alguno de los suyos propios (knock out) y también tipos y modelos que permiten la inducción reversible del knock-down de genes y funciones génicas basándose en el RNA de interferencia (RNAi), los modelos transgénicos de enfermedades, o los modelos con déficits inmunitarios etc.

La utilización de ratones como modelos de mamífero in vivo en la biología humana tiene ya una historia muy larga y fructífera, especialmente en investigación tanto médica como farmacéutica. Sin embargo, teniendo en cuenta que existen diferencias interespecies entre el ratón y el hombre y teniendo en cuenta también que tanto la investigación traslacional como la medicina personalizada suponen tendencias muy importantes en la actualidad, se necesitan modelos que puedan predecir mejor el funcionamiento de fármacos potenciales en el humano.

Existe una necesidad evidente de utilizar modelos que sean lo más parecidos posibles a los humanos de forma que permitan una mejor capacidad de traslación desde los datos animales a

la situación humana. Según ha dicho el Dr. Tatsuji Nomura, el fundador del instituto central de Animales de Experimentación en Tokyo (CIEA) «Estos modelos de ratón modificados podrían ser considerados idealmente a los ojos de un médico como un paciente humano» (Walsh *et al.*, 2017).

La generación de «ratones humanizados» y su validación supone un área de amplia colaboración entre Taconic Biosciences (New York y Colonia) y el CIEA (Tokyo).

Existen dos abordajes diferentes para conseguir ratones humanizados. El primero utiliza técnicas de ingeniería genética que se basa en la genómica de recombinación homóloga que sustituye uno o varios genes murinos por sus equivalentes humanos, colocando al (los) gen(es) humano(s) en el mismo contexto transcripcional que los genes murinos. Los genes murinos correspondientes son eliminados para evitar su posible interferencia (Bissig *et al.*, 2010).

La posibilidad de evaluar el patrón metabólico de un fármaco potencial en ratones humanizados y no en salvajes «wild type», tiene una importancia particular ya que precisamente dicho patrón de formación de metabolitos puede ser significativamente distinto en los ratones salvajes «wild type» y los humanos. Si durante las pruebas clínicas de un nuevo fármaco potencial y aparecen algunos metabolitos importantes no deseados, esto puede llegar a ser un grave problema para la compañía farmacéutica, que puede conducir a una importante pérdida de tiempo y dinero y que puede incluso llevar a finalizar el desarrollo del proyecto.

La alternativa la constituye el uso de modelos humanizados de ratón en una fase temprana del desarrollo del fármaco lo que significaría la obtención de resultados significativos que permitan tomar decisiones relevantes sobre el proceso de desarrollo ulterior del mismo (Bissig *et al.*, 2010).

El modelo mas complejo realizado hasta hoy ha sido llevado a cabo por TACONIC e incluye el intercambio de cinco genes murinos por sus contrapartes humanas. Los modelos de ratón humanizado permiten estudiar aspectos especialmente importantes para

el desarrollo de fármacos en fases muy iniciales. De esta forma pueden ser considerados herramientas muy útiles para incrementar la eficacia del proceso de desarrollo de fármacos (Stadler, 2016).

En este tipo de desarrollos ha sido muy importante el denominado ratón NOG, que es un modelo de ratón super inmunodeficiente que vienen siendo utilizados desde hace décadas.

Los mejores ejemplos de inmunodeficiencia son los «ratones desnudos» que no tienen timo (desarrollados en los 1960s) o mas tarde los ratones SCID (1983) que no tienen células B o células T. La posibilidad de generar ratones humanizados utilizando la transfección de genes humanos en el área de la inmunidad ya había sido investigado en el pasado y el trabajo inicial con los ratones desnudos, condujeron a un sistema que permitía la producción de un gran número de animales con una elevada calidad biológica individual (Shultz *et al.*, 2010, 2012).

Mas adelante se desarrollaron los ratones NOD-scid como una versión mejorada de los ratones SCID. Permitieron de hecho la diferenciación de células sanguíneas humanas a partir de células madre hematopoyéticas. Pero seguían presentando problemas así que fue necesario el desarrollo de un nuevo tipo de ratones inmunodeficientes.

El ratón NOG tiene gran cantidad de alteraciones inmunológicas que lo convierte en uno de los mejores modelos para ser receptor de xenotransplantes y para así poder generar modelos animales de diferentes enfermedades humanas. Presenta defectos en las células Natural Killer, así como de células B y T y tiene además una cualidad única entre las cepas inmunodeficientes, concretamente un grave déficit en la función de las células Dendríticas lo que resulta en una disminución dramática de la secreción de Interferón- γ (gamma).

En conclusión los ratones NOG desarrollados por TACONIC pueden ser muy útiles como modelo de enfermedades infecciosas, modelos para la investigación del cáncer, modelos con órganos «humanos» y otras aplicaciones (Watanabe *et al.*, 2009).

Estos modelos son muy útiles para los investigadores que estudian la interacción entre las células inmunitarias humanas y los tumores en la búsqueda de nuevos fármacos en la investigación del cáncer.

Un último ejemplo es la utilización de ratones NOG para generar ratones humanizados hasta el punto que llevan en realidad un hígado humano. Se ha desarrollado una plataforma experimental *in vivo* que permite reemplazar el hígado murino por un tejido hepático humano funcional. Para hacerlo, se expresa en el hígado de los ratones NOG mediante un virus de herpes simplex tipo 1 un transgen de timidina kinasa. Las células hepáticas murinas se destruyen selectivamente con Ganciclovir, y los hepatocitos humanos trasplantados se mantienen estables en el hígado gracias a su resistencia a dicho antivirico. El hígado humano reconstituido se ha visto que es un «órgano humano» maduro y funcional que tiene expresión específica de los correspondientes enzimas y un patrón global de expresión génica representativa de un hígado humano maduro y puede generar un perfil específico humano del metabolismo de fármacos (Xu *et al.*, 2015).

El «hígado humanizado» puede mantenerse de forma estable en dichos ratones con un elevado nivel de funcionalidad fisiológica y sintética durante un periodo prolongado de 8 meses. Este sistema *in vivo* supone una plataforma óptima para estudiar la fisiología del hígado humano, incluyendo el metabolismo de fármacos, la toxicología o la regeneración hepática.

El Crispr/cas9 se utiliza para modificaciones más simples del genoma murino

Como pueden Uds. ver, existen una gran cantidad y variedad de modelos animales experimentales que han permitido en el pasado y seguirán haciéndolo en el futuro continuar el avance imparable de la ciencia médica y veterinaria. Aunque el uso de dichos modelos se vaya haciendo cada vez más complicado desde el punto de vista administrativo seguirá siendo un pilar fundamental y muy difícilmente sustituible para el desarrollo científico en estas y otras áreas.

He dicho.

Bibliografía

- ADLER, R. A. (1986). The anterior pituitary-grafted rat: a valid model of chronic hyperprolactinemia *Endocrine Reviews* 7:302-313.
- ADLERCREUTZ, H. «Phytoestrogens. State of the Art» *Environ, Fox and P. Farmacol.* 7:201-207 (1999).
- ASHCROFT, G. S., DODSWORTH, J., VAN BOXTEL, E. Estrogen accelerates cutaneous wound healing associated with an increase in TGF- β 1 levels. *Nat Med* 1997;3:1209-1215.
- AZCOITIA, I., SIERRA, A., GARCÍA SEGURA, L. M. «Neuroprotective effect of estradiol in the adult rat hippocampus: interaction with insulin-like growth factor I signalling». *J. Neurosci. Res.* (1999) 58(6): 815-822.
- AZCOITIA, I., PÉREZ-MARTÍN, M., SALAZAR, V., CASTILLO, C., ARIZNAVARRETA, C., GARCIA-SEGURA, L. M. and TRESGUERRES, J. A. F. «Growth hormone prevents neuronal loss in the aged rat hippocampus». *Neurobiology of Aging* 26: 697-703, 2005.
- BAUMAN, P., BROMAN, J. E., HETTA, J., WIKLUND, I., EHRFURT, E. M., HAGG, E. y KARLSSON, F. A. Quality of life in adults with GH deficiency. Responses to treatment with rh GH in a placebo controlled 21 months trial. *J. Clin. Endocrinol. Metab* (1995) 80:3585-3590.
- BECK, K. D., POWEL-BRAXTON, L., WINDNER, H. R., VALVERDE, J. y HEFTI, F. «IGFI gene disruption results in reduced brain size, CNS hypomyelination, and loss of hippocampal granule and striatal parvalbumin-containing neurons». *Neuron* 14:717-730 (1995).
- BISSIG, K. D., WIELAND, S. F., TRAN, P., ISOGAWA M., LE T. T., *et al.* Human liver chimeric mice provide a model for hepatitis B and C virus infection and treatment. *J Clin Invest.* 2010; 120:924-30.

- BURGER, H. G., DUDLEY, E. C., ROBERTSON, D. M. y DENNERSTEIN, L. (2002) Hormonal changes in the menopause transition. *Recent Prog Horm Res* 57: 257–275.
- CALLENS, A., VAILLANT, L. y LECOMTE, P. Does hormonal skin aging exist? A study of the influence of different hormone replacement therapy regimens on the skin of postmenopausal women using non-invasive measurement techniques. *Dermatology* 193: 289-294, 1996.
- CACHOFEIRO, V., LAHERA, V., DURAN, F., CAÑIZO, F. J. F., RODRIGUEZ, J. And TRESGUERRES, J. A. F. «Antihypertensive action of Linoleic acid. Effects on PRA, PGS and Sodium excretion». *Progress in Lipid Research*. 25: 519 (1986).
- CASTILLO, C., CRUZADO, M., ARIZNAVARRETA, C., GIL-LOYZAGA, P., LAHERA, V., CACHOFEIRO, V. y TRESGUERRES J. A. F. Body composition and vascular effects of growth hormone administration in old female rats. *Experimental Gerontology* (2003) Sep; 38(9):971-9.
- CASTILLO, C., SALAZAR, V., ARIZNAVARRETA, C., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. «Effect of GH and estrogen administration on hepatocyte alterations changes in old ovariectomized female Wistar rats» *Endocrine* 26:11-18,2005, ISSN: 0969-711X.
- CASTILLO, C., SALAZAR, V., ARIZNAVARRETA, C., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. «Effect of melatonin administration on parameters related to oxidative damage in hepatocytes isolated from old Wistar rats.» *J Pineal Research* 38: 240-246 (2005).
- COLMAN, R. J., ANDERSON, R. M., JOHNSON, S. C., KASTMAN, E. K., KOSMATKA, K. J., BEASLEY, T. M., ALLISON, D. B., CRUZEN, C., SIMMONS, H. A., KEMNITZ, J. W. y WEINDRUCH, R. Caloric Restriction Delays Disease Onset and Mortality in Rhesus Monkeys *SCIENCE VOL. 325: 201-204* 2009.
- CUESTA, S., KIREEV, R., FORMAN, K., GARCIA, C., ESCAMES, G., ARIZNAVARRETA, C., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. «Mela-

tonin improves inflammation processes in liver of senescence accelerated prone male mice (SAMP8)». *Experimental Gerontology* 2010 45:950-958.

CUESTA, S., KIREEV, R., FORMAN, K., GARCÍA, C., ACUÑA, D., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. Growth hormone can improve insulin resistance and differentiation in pancreas of senescence accelerated prone male mice (SAMP8). *Growth Horm IGF Res.*21:63-68 (2011).

CUESTA, S., KIREEV, R., FORMAN, K., GARCÍA, C., ESCAMES, G., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. (2011). Beneficial effect of melatonin treatment on inflammation, apoptosis and oxidative stress on the pancreas of Senescence Accelerated Mice Model. *Mechanism of Ageing and Development.* 132:573-582. (2011).

CUESTA, S., KIREEV, R., GARCÍA, C., RANCAN, L., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. Melatonin can improve insulin resistance and aging-induced pancreas alterations in senescence accelerated prone male mice (SAMP8). *AGE* 35:659-71 (2013).

CHRIST, E. R., CHOWIENCZYK, P. J., SÖNKSEN, P. H. y RUSSEL JONES, D. L. «Growth hormone replacement therapy in adults with growth hormone deficiency improves vascular reactivity» *Clin Endocrinol (Oxf.)* (1999) 51: 1, 21.

DE LA FUENTE, M. Effects of antioxidants on immune system ageing. *Eur J Clin Nutr.* 2002 Aug; 56 Suppl 3: S5-8.

DE LA FUENTE, M., DEL RÍO, M., VÍCTOR, V. M. y MEDINA, S. 2001. Neuropeptide Y effects on murine natural killer activity: changes with ageing and cAMP involvement. *Regul. Pept.* 101, 73-79.

DEVESA, J., LIMA, L. And TRESGUERRES, J. A. F. «Neuroendocrine control of Growth Hormone secretion in humans». *Trends Endocrinol Metabolism*, 3(5):175-183 (1992).

DUNN, L. B., DAMESYN, M., MOORE, A., *et al.* Does estrogen prevent skin aging? *Arch Dermatol* 133:339-342, 1997.

- ESQUIFINO, I., RAMOS, J. A. and TRESGUERRES, J. A. F. «Possible role of dopamine in changes in luteinizing hormone and prolactin concentrations after experimentally induced hyperprolactinaemia». *Journal of Endocrinology*. 100: 141-148 (1984).
- FERNANDEZ-RUIZ, J. J., CEBEIRA, M., AGRASAL, C., TRESGUERRES, J. A. F., BARTKE, A., ESQUIFINO, A. I. And RAMOS, J. A. «Possible role of DA and NA in the regulation of PRL secretion from an ectopic anterior pituitary gland in female rats». *J. Endocrinology*. 113: 45 (1987).
- FERNANDEZ-RUIZ J., UBEDA, E., TRESGUERRES, J. A. F., ESQUIFINO, A. I. y RAMOS, R. A. «Estudio del posible papel de la dopamina en la liberación de prolactina en un modelo de hiperprolactinemia experimental». *Endocrinología*. 31: 83 (1984).
- FLOOD, J. F. , MORLEY, J. E., LA REGINNA, M. Age-related changes in the pharmacological improvement of retention in senescence accelerated mouse (SAM) *Neurobiol Aging* 1993; 14:159-166.
- FORMAN, K., VARA, E., GARCÍA, C., ARIZNAVARRETA, C., ESCAMES, G. y TRESGUERRES, J. A. F. «Cardiological aging in SAM model: effect of chronic treatment with growth hormone» *Biogerontology* 11: 275-286(2010) ISSN1389-5729.
- GAILLARD, R. C., SPINEDI, E. 1998. Sex- and stress-steroids interactions and the immune system: evidence for a neuroendocrine-immunological sexual dimorphism. *Domestic Animal Endocrinology* 15, 345-352.
- GARCÍA SEGURA, L. M., AZCOITIA, I. y DONCARLOS, L. L. «Neuroprotection by estradiol» *Progres in Neurobiol* (2001) 63(1): 29-60.
- GASBARRINI, A., SIMONCINI, M., DI CAMPLI, C., DE NOTARIIS, S., COLANTONI, A., POPA, P., BERNARDI, M. y GASBARRINI, G. (1998). Ageing affects anoxia/reoxygenation injury in rat hepatocytes. *Scand J Gastroenterol* 33(10): 1107-1112.
- GINES, C., CUESTA, S., KIREEV, R., GARCÍA, C., RANCAN, L., PAREDES, S. D., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. Protective effect of

resveratrol against inflammation, oxidative stress and apoptosis in pancreas of aged SAMP8 mice *Experimental Gerontology* 90: 61-70 (2017).

GUARENTE, L. Sir2 proteins regulate aging in response to nutrients. *ScientificWorldJournal*. 2001; 1 (1 Suppl 3):75.

GUSTAFSSON, K., HAGBERG, H., BENGTSSON, B. A., BRANTSING, C. y ISGAARD, J. «Possible protective role of GH in hypoxia-ischemia in neonatal rats». *Pediatr. Res.* (1999) 45:318-323.

HEEMSKERK, V. H., DAEMEN, M. A., BUURMAN, W. A. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and growth hormone (GH) in immunity and inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 1999 Mar; 10(1): 5-14.

HERMANUSSEN, M., ROL DE LAMA, M. A. BURMEISTER y J. TRESGUERRES, J. A. F. «Mikro-knemometry: An Accurate Technique of Growth Measurement in Rats.» *Physiology & Behavior*, 58:347-352 (1995).

HERMANUSSEN, M., ROL DE LAMA, M. A., PEREZ ROMERO, A., ARIZNAVARRETA, C., BURMEISTER, J. y TRESGUERRES, J. A. F. «Differential Catch up in body weight and bone growth after short term starvation in rats». *Growth regulation*, 6: 230-237 (1996).

HERMANUSSEN, M., ROL DE LAMA, M. A., PÉREZ ROMERO, A., ARIZNAVARRETA, C., TRESGUERRES, J. A. F. y GRASEDICK, L., BURMEISTER, J. «Short term growth: Evidence for chaotic series of mini growth spurts in rat and human growth». *Physiol & Behavior*, 64 7-13 (1998).

JEAY, S., SONENSHEIN, G. E., POSTEL-VINAY, M. C., KELLY, P. A. y BAIXERAS, E. Growth hormone can act as a cytokine controlling survival and proliferation of immune cells: new insights into signaling pathways. *Mol Cell Endocrinol.* 2002 Feb 25; 188(1-2): 1-7.

KIREEV, R. A., BITOUN, S., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. Melatonin treatment protects steatotic liver after ischemia/

reperfusion by diminishing inflammation, oxidative stress and apoptosis. *Clinical Nutrition* (Impact Factor: 3.94). 09/2013; 32:S45-S46. DOI: 10.1016/S0261-5614(13)60110-7.

- KIREEV, R., BITOUN, S., CUESTA, S., TEJERINA, A., IBARROLA, C., MORENO, E., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. Melatonin treatment protects liver of Zucker rats after ischemia/reperfusion by diminishing oxidative stress and apoptosis *European Journal of Pharmacology* 701:185-193 (2013)
- LAHERA, V., DURÁN, F., CACHOFEIRO, V., CAÑIZO, F. J., CANTÓN, J. J., RODRÍGUEZ, F. J. y TRESGUERRES, J. A. F. «Role of renal prostaglandins in the action of RAMIPRIL (HOE-498) in normotensive rats». *Prost. Leuk. & Ess. Fatty acids* 35: 25-30 (1989).
- LANE, M. A., ROTH, G. S. y INGRAM, D. K. Caloric restriction mimetics: a novel approach for biogerontology. *Methods Mol Biol.* 2007; 371:143–149.
- LÓPEZ-CALDERÓN, A., GONZÁLEZ-QUIJANO, M. I. TRESGUERRES, J. A. F. And ARIZNAVARRETA, C. «Role of LHRH in the gonadotrophin response to restraint stress in intact male rats». *J. Endocrinology.* 124:241-246 (1990).
- LÓPEZ-CALDERÓN, A., ARIZNAVARRETA, C., GONZALEZ-QUIJANO, M. I. y TRESGUERRES, J. A. F. «Stress induced changes in testis function». *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.*, 40(1-3):473-479 (1991).
- LÜSCHER, T. F., TANNER, F. C. y NOLL, G. «Lipids and endothelial function: effects of lipid lowering and other therapeutic interventions» *Curr Opin Lipidiol* (1996) 7: 234.
- MALAGUARNERA, L., FERLITO, L., IMBESI, R. M., GULIZIA G. S., DI MAURO, S., MAUGERI, D., MALAGUARNERA, M. y MESSINA, A., 2001. Immunosenescence: a review. *Arch. Gerontol. Geriatr.* 32, 1-14.
- MCCARTY, M. F. A low-fat, whole-food vegan diet, as well as other strategies that downregulate IGF-I activity, may slow the human aging process. *Med Hypotheses* 2003;60(6):784-92.

- MENA, F., HAIWEG, H. y GROSVENOR, G. Effects of ectopic pituitary upon prolactin concentration by the in situ pituitary of the lactating rat *Endocrinology* 1968 (83: 359-365).
- MONTAGNA, M. and CARLISLE, K. Structural changes in ageing skin. *British Journal of Dermatology*, 1990; 112(35):61-70.
- NYBERG, F. «GH in the Brain: Characteristics of specific brain targets for the hormone and their functional significance». *Frontiers in Neuroendocrinology*. 21:330-348 (2000).
- OAKES, S. R., HAYNES, K. M., WATERS, M. J., HERINGTON, A. C. y WERTHER, G. A. Demonstration and localization of growth hormone receptor in human skin and skin fibroblasts. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:1368-73.
- ORIOI BOSCH, A., TRESGUERRES, J. A. F. y ESQUIFINO, A. I. «Interrelación entre los sistemas de regulación de Prolactina y gonadotropinas». *Phronesis*. I (82): 33, (1982).
- PAREDES, S. D., RANCAN, L., KIREEV, R., GONZALEZ, A., LOUZAO, P., GONZÁLEZ, P., RODRÍGUEZ-BOBADA, C., GARCÍA, C., VARA, E. and TRESGUERRES, J. A. F. Melatonin Counteracts at a Transcriptional Level the Inflammatory and Apoptotic Response Secondary to Ischemic Brain Injury Induced by Middle Cerebral Artery Blockade in Aging Rats *BioResearch Open Access Volume* 4: 407-16, 2015.
- PAWELEC, G., BARNETT, Y., FORSEY, R., FRASCA, D., GLOBERSON, A., MCLEOD, J., CARUSO, C., FRANCESCHI, C., FÜLOP, T., GUPTA, S., MARIANI, E., MOCHEGIAN, E. y SOLANA, R., 2002. T cells and aging. *Frontiers in Bioscience* 7: D1056-D1183.
- PÉREZ-MARTÍN, M., SALAZAR, V., CASTILLO, C., ARIZNAVARRETA, C., AZCOITIA, I., GARCÍA-SEGURA, L. M. and TRESGUERRES, J. A. F. «Estradiol and soy extract increase the production of new cells in the dentate gyrus of old rats» *Exper Gerontology* (40: 450-453, 2005).

- PFEIFER, M., VERHPOREC, R., ZIZEK, B., PREZELJ, J., POREDOS, P. y CLAYTON, R. N. «Growth hormone (GH) treatment reverses early atherosclerotic changes in GH-deficient adults» *J. Clin. Endocrin and Metab.* 84: 2 453-457 (1999)
- PFEILSCHIFTER, J., KODITZ, R., PFOHL, M. y SCHATZ, H. Changes in proinflammatory cytokine activity after menopause. *Endocr Rev.* 2002 Feb; 23(1): 90-119.
- PHILLIPS, T. J., MD, DEMIRCIY, Z., MD, and SAHU, M., BA: Hormonal effects on skin aging. *Geriatric Dermatology* 2001; 17(4):661-672.
- PINSKY, J. L., JETTE, A. M., BRANCH, L. G., KANNEL, W. B. y FEINLEIB, M. (1990) The Framingham Disability Study: relationship of various coronary heart disease manifestations to disability in older persons living in the community. *Am J Public Health* 80:1363–1367.
- PUIG, Á., RANCAN, L., PAREDES, S. D., CARRASCO, A., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. Melatonin decreases the expression of inflammation and apoptosis markers in the lung of a senescence accelerated mice model: *Exp. Gerontol.* 75: 1-7 (2016) II 3,3 Q2.
- RANCAN, L., PAREDES, S. D., GARCÍA, I., MUÑOZ, P., GARCÍA, C., LÓPEZ DE HONTANAR, G., DE LA FUENTE, M., VARA, E. y TRESGUERRES, J. A. F. Título: Protective effect of xanthohumol against age-related brain damage. *J. Nutr. Biochem.* 49:133-140 (A) Editorial: Elsevier Science Inc. (I.S.S.N.: 0955-2863) Año: 2017.
- RANCAN L. PAREDES, S. D., GARCÍA, C., GONZÁLEZ, P., RODRÍGUEZ-BOBADA, C., CALVO-SOTO, M., HYACINTHE, B., VARA, E. and TRESGUERRES, J. A. F. Comparison of the Effect of Melatonin Treatment Before and After Brain Ischemic Injury in the Inflammatory and Apoptotic Response in Aged Rats *Int Journal; Molecular Sciences* 2018.

- RAVNIKAR, V., ELKIND-HIRSCH, K., SCHIFF, I. *et al.* Vasomotor flushes and the release of peripheral immunoreactive lutenising hormone releasing hormone in postmenopausal women. *Fertil Steril* 41:881-887, 1985.
- REITER, R., TANG, L., GARCÍA, J. J. y MUÑOZ HOYOS, A. «Pharmacological Actions of melatonin in oxigen radical pathophysiology» *Life Sci.* 60: 2255-2271 (1997).
- ROL DE LAMA, M. A., PÉREZ-ROMERO, A., TRESGUERRES, J. A. F., HERMANUSSEN, M. y ARIZNAVARRETA, C. «Recombinant GH enhances tibial growth in peripubertal female rats but not in males.» *Eur.J.Endocrinol* 142:517-523 (2000).
- ROL DE LAMA, M. A., ROEST, C., ROLF, C., ROLF, K., RAUTENBERG, M., TRESGUERRES, J. A. F, ARIZNAVARRETA, C., «Daily rat tibial growth measurement «in vivo» following hypothlamic sex reversal with neonatal and pubertal treatments with gonadal steroids». *Ann Hum Biol.* 28:38-50 (2001).
- ROSHAN, S., NADER, S. y ORLANDER, P. «Ageing and hormones» *Eur J Clin Invest* (1999) 29:3, 210.
- ROTH, G. S., LANE, M. A., INGRAM, D. K., *et al.* Biomarkers of caloric restriction may predict longevity in humans. *Science.* 2002;297(5582):811.
- RUILOPE, L. M., BARRIENTOS, A., GARCÍA ROBLES, R., BERNIS, C., ALCAZAR, J. M., TRESGUERRES, J. A. F, MANCHEÑO, E., MILLET, V. G., SANCHO J. y RODICIO, J. L. «The role of urinary PGE2 and renin angiotensin & Aldosterone system in the pathogenesis of Essential hypertension». *Clin. & Exper. Hypertension.* A4: 989-1000 (1982).
- RUILOPE, L. M., GARCÍA ROBLES, R., BERNIS, C., BARRIENTOS, A., ALCAZAR, J., TRESGUERRES, J. A. F, SANCHO, J. And RODICIO, J. L. «Role of renal Prostaglandin E2 in Chronic renal disease hypertension». *Nephron.* 32: 202-206 (1982).

- SANZ, A., CARO, P. and BARJA, G. Protein Restriction Without Strong Caloric Restriction Decreases Mitochondrial Oxygen Radical Production and Oxidative DNA Damage in Rat Liver *Journal of Bioenergetics and Biomembranes*, Vol. 36, Nº. 6, (2004).
- SHAMES, R. S. Gender differences in the development and function of the immune system. *J Adolesc Health*. 2002 Apr; 30 (4 Suppl 1): 59-70.
- SHULMAN, D. I. Metabolic effects of growth hormone in the child and adolescent. *Curr Opin Pediatr* 2002; 14(4):432-436.
- SHULTZ, L. D., BREHM, M. A., GARCÍA-MARTÍNEZ, J. V. y GREINER, D. L. Humanized mice for immune system investigation: progress, promise and challenges. *Nat Rev Immunol*. 2012; 12:786–98.
- SHULTZ, L. D., SAITO, Y., NAJIMA, Y., TANAKA, S., OCHI, T. *et al.* Generation of functional human T-cell subsets with HLA-restricted immune responses in HLA class I expressing NOD/SCID/IL2r gamma(null) humanized mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010; 107:13022–7.
- STADLER, P. Cologne, for Taconic Biosciences, Inc. «Generation and Use of Humanized Mice for Pharmaceutical and Medical Research» Royal National Academy of Medicine, Spain 7 april 2016.
- TAKEDA, T. (2009). Senescence-accelerated mouse (SAM) with special references to neurodegeneration models, SAMP8 and SAMP10 mice. *Neurochem Res*. 34:639–659.
- TAKEDA, T. (2009). Senescence-accelerated mouse (SAM) with special references to neurodegeneration models, SAMP8 and SAMP10 mice. *Neurochem Res*. 34:639–659.
- TAKEDA, T., HOSOKAWA, M. y TAKESHITA, S. (1981). A new murine model of accelerated senescence. *Mech Ageing Dev*. 17:183-194.

- TAKEDA, T. Senescence-accelerated mouse (SAM): a biogerontological resource in aging research. *Neurobiol Aging* 1999; 20:105-110.
- THIBOUTOT, D. M. Dermatological manifestations of endocrine disorders. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80:3082-7.
- TOOGOOD, A. A. and SHALET, S. M. «Aging and growth hormone status» *Baillieres Clin Endocrinol Metab* (1998) 12: 2, 281.
- TORRES-ALEMAN, I., PONS, S. y ARÉVALO, M. A. The IGF I System in the rat cerebellum: Developmental Regulation and Role in Neuronal Survival and differentiation. *J. of Neuroscience Research* 39:117-126 (1994).
- TRESGUERRES, J. A. F. «Efecto de los tratamientos hormonales crónicos sobre el envejecimiento cutáneo». Tesis Doctoral UCM 2006.
- TRESGUERRES, J. A. F. And ESQUIFINO, A. I. «Dissociation in LH and FSH regulation in an hyperprolactinemic rat model: Interrelationship between gonadotrophin and Prolactin control». *Journal of Endocrinology*. 90: 41-51 (1981).
- TRESGUERRES, J. A. F., KIREEV, R., FORMAN, K., CUESTA, S., TRESGUERRES, A. F. and VARA, E. Effect of Chronic Melatonin Administration on Several Physiological Parameters from Old Wistar Rats and Samp8 Mice *Current Aging Science*, 2012, 5: 242-253.
- TRESGUERRES, J. A. F., LAHERA, V. y CACHOFEIRO, M. V. «Dietary essential polyunsaturated fatty acids and blood pressure». *News in Physiol. Sciences*. 4: 64-68 (1989).
- TRESGUERRES, J. A. F., GRANADOS, B., ÁLVAREZ-VEGA, P., FERNÁNDEZ MATEOS, P, GIL-LOYZAGA, P. ÁLVAREZ BUYLLA, R. and ARIZNAVARRETA, C. «Parotid gland tissue is able to partially assume pituitary functions under the influence of hypothalamic factors: In vivo and in vitro studies». *J. Endocrinology*, 160: 205-216 (1999a).

- TRESGUERRES, J. A. F., ARIZNAVARRETA, C., GRANADOS, B., COSTOYA, J. A., PÉREZ ROMERO, A., SALAME, F. and HERMANUSSEN, M. «Salivary gland is capable of GH synthesis under GHRH stimulation». *J.of Endocrinology*, 160:217-222 (1999b).
- TRESGUERRES, I., CLEMENTE, C., DONADO, M., GÓMEZ-PELLICO, L., BLANCO, L., ALOBERA, M. A., TRESGUERRES, J. A. F. «Local administration of growth hormone enhances periimplant bone reaction in an osteoporotic rabbit model - An histologic, histomorphometric and densitometric study». *Clin. Oral Impl. Res* 13, pp. 631-636 (2002).
- TRESGUERRES, I. F., BLANCO, L., CLEMENTE, C., TRESGUERRES, JAF «Effects of local administration of Growth hormone in peri-implant bone. An experimental study with Screw-vent implants in rabbit tibiae» *Int. J. Oral Maxillofacial Implants*, 18:807-811, 2003.
- TRESGUERRES, I. F., ALOBERA, M. A., BACA, R. y TRESGUERRES, J. A. F. Histologic, morphometric and densitometric study of peri-implant bone in rabbits with local administration of GH. *Int J Oral Maxillofac Implants* 20:193-202 (2005).
- WALSH, N., KENNEY, L., JANGALWE, S., ARYEE, K-E., GREINER, D. L., BREHM, M. A. and SHULTZ, L. D. Humanized mouse models of clinical disease *Annu Rev Pathol.* 2017 January 24; 12: 187–215. doi:10.11461.
- WATANABE, Y., TAKAHASHI, T., OKAJIMA, A., SHIOKAWA, M., ISHII, N., *et al.* The analysis of the functions of human B and T cells in humanized NOD/shi-scid/gammac(null) (NOG) mice (hu-HSC NOG mice). *Int Immunol.* 2009; 21:843–58.
- WEINDRUCH, R. *et al.* Caloric restriction mimetics: metabolic interventions. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2001;56 Spec No 1:20-33.
- WEINDRUCH, R. Caloric restriction and aging. *Sci Am* 1996; 274:46-52.

- WENGER, N. K. (2002) Clinical characteristics of coronary heart disease in women: emphasis on gender differences. *Cardiovasc Res* 53: 558–567
- WISE, P. M., SMITH, M. J., DUBAL, D. B., WILSON, M. E., KRAJNAK, K. M. y ROSEWELL, K. L. (1999) Neuroendocrine influences and repercussions of the menopause. *Endocr Rev* 20: 243–248.
- XU, D., MICHIE, S. A., ZHENG, M., TAKEDA, S., WU, M. y PELTZ, G. Humanized thymidine kinase-NOG mice can be used to identify drugs that cause animal-specific hepatotoxicity: a case study with furosemide. *J Pharmacol Exp Ther.* 2015; 354:73–8.
- YAAR, M. and GILCHREST, B. A. 2001. Skin aging, postulated mechanisms and consequent changes in structure and function. *Geriatric Dermatology*, 17(4): 617-630.
- ZHANG, Y., HERMAN, B. Apoptosis and successful aging. *Mech Ageing Dev* 2002; 123:563-565.
- ZHU, L. Y. Y., CHUA, B. H., HO, Y. S. y KUO, T. H. Regulation of sodium-calcium exchange and mitochondrial energetics by Bcl-2 in the heart of transgenic mice. *J Mol Cell Cardiol.* 2001;33:2135-2144.

**DISCURSO DE CONTESTACIÓN PRONUNCIADO
POR EL ACADÉMICO DE NÚMERO
EXCMO. SR. DR. D. JUAN TAMARGO MENÉNDEZ**

EXCMO. SR. PRESIDENTE DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS
VETERINARIAS DE ESPAÑA

EXCMS. SRAS. Y SRES. ACADÉMICOS, AUTORIDADES

FAMILIA DEL PROF. FERNÁNDEZ-TRESGUERRES

SEÑORAS Y SEÑORES.

Querría iniciar mi exposición dejando constancia de mi profunda gratitud a la Junta Directiva de la Real Academia Nacional de Ciencias Veterinarias por haberme otorgado el privilegio y la oportunidad en este acto solemne de dar bienvenida en nombre de nuestra Institución al Prof. Jesús Ángel Fernández-Tresguerres Hernández, quien ha ocupado la vacante de una Plaza de Académico de Número en Ciencias Afines. Esta encomienda constituye un alto honor, pero al mismo tiempo un indudable reto y una responsabilidad, pues debo realizar en un breve espacio de tiempo una semblanza de la personalidad y de la intensa y dilatada trayectoria académica, docente e investigadora de nuestro Académico, sabiendo que sólo podré ofrecer unas breves pinceladas de su obra. Por otro lado, tengo el placer de presentar a un viejo amigo, con quien he compartido numerosas actividades a lo largo de más de 40 años. Si tuviera que rememorar estos años me viene a la mente la obra de teatro «Historia de una escalera» de Antonio Buero Vallejo, pues mientras subíamos y bajábamos los mismos escalones del pabellón tercero de nuestra Facultad hemos tenido mucho tiempo para hablar de lo divino y de lo humano.

Tras este preámbulo, paso a presentar al nuevo académico

La persona

Creo que lo primero que debo de hacer es acercarme a la persona, al componente humano, pues lo considero lo más importante y no quería que quedara diluido por otras partes de mi discurso. Al nuevo Académico le nacieron en Lugo el 29 de noviembre de 1948, siendo el primero de 7 hermanos del matrimonio compuesto por Jesús Fernández-Tresguerres Suárez y Flor Hernández Gil. El lugar de nacimiento vino determinado por el destino que su padre, un ingeniero aeronáutico del ejército del aire, donde alcanzó el grado de general y que, además, era arquitecto y químico. De sus padres recuerda que le inculcaron la necesidad de aprovechar al máximo el tiempo, el amor al trabajo y la honestidad y la entrega a los demás por encima de todo, virtudes que ellos siempre predicaron con su ejemplo dándoles a él y a sus hermanos la mejor formación que entonces era posible, aun a costa de grandes sacrificios y privaciones personales.

A los 4 años sus padres se trasladaron a Madrid y a los 5 años empezó a estudiar en el Kindergarten del Colegio Alemán de Madrid sito en la calle Lagasca 129. Posteriormente estudió primaria y bachillerato doble alemán-español en dicho colegio que ya se había trasladado a la Calle de Concha Espina. Les puedo asegurar que estudiar en el Colegio Alemán hace 40-50 años imprimía carácter y, me atrevería a decir, un carácter duradero forjado en el esfuerzo diario y en el trabajo bien hecho. El resultado es que ya desde su niñez hablaba alemán y español y, no contento con ello, comenzó a aprender inglés, lo que completó asistiendo a la escuela central de Idiomas y posteriormente con varias estancias durante el verano, en Oxford primero y en Edimburgo después, donde se ganaba la vida tocando la guitarra en un restaurante. Posteriormente, aprendió francés en la escuela central de idiomas, lo que completó con una estancia veraniega en Tours.

En 1974 se casó con Dña. Carmen Centeno Díaz en el Monasterio de Guadalupe (Cáceres). Carmen ha brindado a Jesús cariño, aliento y comprensión y, como afirma nuestro Académico ha tenido que soportar con paciencia y alegría la a veces excesiva

dedicación al trabajo. No creo faltar a la verdad, si rememoro esa sonrisa perenne que brilla en la cara de Carmen, su tesón y su valiente y enconada lucha frente a los avatares de la vida. Fruto de este matrimonio son dos hijos: Ana nacida en 1977, que hoy es especialista en Dermatología y Alberto que es músico.

Una sólida formación en Endocrinología experimental y clínica

El Prof. Fernández-Tresguerres estudió la carrera de Medicina en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid. Al terminar sus estudios en 1971 se incorporó al Departamento de Fisiología y, más en particular, en la Cátedra de Endocrinología Experimental que por entonces dirigía su maestro y amigo, el Profesor Alberto Oriol Bosch. Esta cátedra había sido recreada en 1969 por la Universidad Complutense a instancias del Prof. Antonio Gallego por el entonces Rector de la Universidad Complutense, el Prof. D. José Botella Llusía, en recuerdo de la antigua cátedra de Endocrinología que había ocupado el Dr. Gregorio Marañón.

Jesús Fernández-Tresguerres completó su formación pre- y post-doctoral desde 1974 a 1977 en la segunda cátedra de Clínica Médica del el Hospital Universitario Eppendorf de Hamburgo (Alemania) con los Profesores Jurgen Tamm, Belisario Lisboa y Klaus Dieter Voigt, donde trabajó en la determinación de esteroides mediante las técnicas de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas. Recuerda que durante su estancia en Hamburgo se dio cuenta que el nivel científico en la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense era el mismo o muy parecido al de Alemania, con lo que se le quitaron muchos complejos de los que se tenían por aquel entonces en nuestro país. En Alemania empezó también la internacionalización de su actividad investigadora, comenzando a publicar de forma regular en las revistas más prestigiosas de su especialidad. Y seguro que recuerda que por aquellas fechas fue invitado al congreso de Esteroides Hormonales que se celebraba en Delhi donde dio su primera conferencia en un Simposio Internacional.

En 1976, obtuvo el grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad Complutense, tras la defensa de la Tesis Doctoral dirigida por Alberto Oriol Bosch que llevaba por título «Las prostaglandinas en los procesos reproductivos».

Tras su reincorporación al Departamento de Fisiología en 1977 fue nombrado Profesor Adjunto Interino y en 1978 ganó por oposición la plaza de Profesor Adjunto Numerario de Fisiología y Endocrinología Experimental. En 1989 ganó la Cátedra de Fisiología de dicho Departamento, del que fue Director durante 8 años y donde continúa su actividad investigadora en la actualidad como catedrático Emérito. Es, además, Profesor Honorífico de las Universidades de Buenos Aires y el Salvador en Argentina.

Su larga trayectoria científica

La intensa y fructífera labor investigadora Prof. Fernández-Tresguerres se ha desarrollado en el campo de la Endocrinología Experimental que había iniciado con su maestro el Prof. Alberto Oriol Bosch, potenciando la creación a lo largo de estos años de unidades de investigación en distintas áreas de la Endocrinología, tales como la neuroendocrinología de la reproducción y del crecimiento y la regulación hormonal del proceso de envejecimiento.

En 1982, nuestro académico da un paso que yo considero muy importante, pues se integra como asesor científico de la empresa Serono Farmacéutica, la primera empresa farmacéutica biotecnológica asentada en la Comunidad de Madrid y desde su nuevo puesto se encargó de la investigación y desarrollo de la hormona de crecimiento (GH), de la hormona liberadora de hormona de crecimiento (GHRH), de la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH), también conocida como hormona liberadora de hormona luteinizante (LHRH) y de las gonadotropinas. Es decir, que el Prof. Fernández-Tresguerres se zambulle en primera persona y desde una posición de privilegio a trabajar en el ámbito del crecimiento, siendo uno de los primeros científicos en investigar el papel de la GHRH en el control de la hormona de crecimiento, contribuyendo a explicar varios de los mecanismos implicados. Junto con

el Prof. Jesús Devesa, Catedrático de Fisiología de la Universidad de Santiago de Compostela, describió el papel de las vías α -adrenérgicas simpáticas y colinérgicas parasimpáticas en el control de la liberación de la GH. Además, analizaron el mecanismo de inhibición del crecimiento producido por los glucocorticoides, demostrando que estaba mediado a través de la potenciación de la señalización a través de los receptores β -adrenérgicos que estimularían a la somatostatina quien, a su vez, inhibiría a la GH. En la Neuroendocrinología del estrés estudió la interacción entre los ejes adrenal y reproductor, demostrando que era el factor liberador de corticotropina (CRF) y no la β -endorfina el factor responsable de la inhibición.

De su estancia en los Laboratorios Serono quiero destacar que el año 1991 creó la Fundación Salud 2000 y asociada a ella se dotaron cuatro Premios Nacionales de investigación y tras arduas discusiones y asesorías jurídicas consiguió que el Premio no conllevara retenciones fiscales para el premiado, algo que hasta entonces nadie había conseguido.

A partir del año 1995 centra su atención en la regulación hormonal del proceso de envejecimiento. Sus estudios han permitido demostrar la posibilidad de prevenir algunos aspectos del proceso de envejecimiento e incluso hacer regresar parcialmente algunos de los efectos degenerativos vinculados a la edad. La posibilidad de restablecer parcialmente la función vascular, inmunitaria y/o metabólica abre nuevas posibilidades terapéuticas para modular el proceso de envejecimiento.

Es miembro de las Sociedades Españolas de Endocrinología (1973), Ciencias Fisiológicas (1973) y de Fertilidad (1980), de la Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie (1976), de la European Neuroendocrine Association (ENEA) desde 1984, de la Endocrine Society (USA) (1986), del Comité Internacional de Esteroides Hormonales (1986-2012) y Médico Investigador de la Agencia Europea de Espacio (ESA) desde 1992 habiendo participado directamente en la elección del primer astronauta español y actual ministro de ciencia y tecnología Pedro Duque . Desde 1986 hasta el 2012 fue

secretario general del Comité Internacional de Hormonas Esteroides, habiendo participado de forma muy intensa en la organización de los Congresos Internacionales celebrados en Madrid en 1986, La Haya en 1990, Dallas en 1994, Quebec en 1998, Fukuoka (Japón) en 2002 y Atenas en 2006. También ha sido Presidente de la Asociación Argentino-Hispánica de Medicina y Ciencias afines habiendo organizado numerosos congresos tanto en Argentina como en España. Es decir, que el Prof. Fernández-Tresguerres es un viajero impenitente, que conoce múltiples países y a buen seguro que en las salas de los aeropuertos, en las que pasa muchas noches en vela, haya experimentado los beneficios de una de sus viejas amigas, la melatonina, para controlar sus frecuentes *jet lags*.

El Prof. Jesús Ángel Fernández-Tresguerres es autor de 256 artículos originales en revistas de reconocido prestigio internacional, editor de 24 libros, ha escrito 116 capítulos en libros y ha presentado más de 350 ponencias y comunicaciones en congresos nacionales e internacionales. En el año 1995 recibió el Premio Lilly de la Sociedad Española de Endocrinología en reconocimiento a su labor investigadora en este ámbito de la Medicina.

En la actualidad centra su atención en la neurotoxicidad del desarrollo, y su investigación ha recibido recientemente financiación del Programa Europeo Horizonte 2020 (2018-2024) dentro del apartado H2020-EU.3.1.1. (*Understanding Health, wellbeing and disease*). El objetivo de este proyecto es analizar la asociación existente entre la exposición a sustancias químicas disruptoras endocrinas (es decir, sustancias capaces de interrumpir algunos procesos fisiológicos controlados por hormonas, o de generar una respuesta de mayor o menor intensidad que lo habitual) y el desarrollo neurológico deficiente. En este proyecto participan 16 grupos de Europa, USA y Australia.

Su labor como Profesor Universitario

Sabedor de que la misión del magisterio se vértebra en la continuidad del maestro en sus discípulos, el Prof. Fernández-Tres-

guerres ha sabido formar y dirigir a numerosos investigadores a los que ha inculcado la importancia de la investigación y la docencia. Y si al verdadero maestro se le conoce a través de sus discípulos, debo de señalar que a los largo de más de cuatro décadas Jesús Fernández-Tresguerres, ha dirigido 40 Tesis Doctorales (4 con Premio Extraordinario) y ha formado a numerosos profesores de Fisiología y Bioquímica, que trabajan en la Universidad Complutense, entre los que destaco a Ana Esquifino Parras, Asunción López Calderón, Vicente Lahera, Victoria Cachofeiro, M^a Ángeles Villanúa, Pilar Fernández Mateos e Isabel Fernández Tresguerres, en la Universidad de Murcia (Ángeles Rol de Lama.), la Universidad Europea (Joaquín Figueroa Alchapar) o la Universidad de Concepción en Chile (Katherine Forman Diaz). A muchos de ellos el Prof. Fernández-Tresguerres no sólo les dirigió la tesis doctoral, sino que participó en su formación post-doctoral en centros de reconocido prestigio internacional.

No puedo olvidar a otros colaboradores del Prof. Fernández-Tresguerres a los que conocí recién llegado yo a Madrid y que me han alegrado en muchas ocasiones con su charla amena y distendida. Entre aquellos jóvenes recuerdo con cariño a Carmen Ariznavarreta, Alicia Tejero, Dolores Vaticón, Javier Rodríguez, Esteban Mancheño o Basilio Moreno.

Ha dirigido durante 14 años un máster sobre reproducción humana que puso en marcha con el Prof. Pedro de Lafuente, catedrático de Ginecología del Hospital 12 de Octubre. También ha dirigido otro Master sobre Medicina Estética y Antienvjecimiento del que se han realizado 14 cursos, tanto en las modalidades presencial, semipresencial y on-line, con gran éxito de alumnos tanto españoles como de Hispanoamérica.

Su papel en la Real Academia Nacional de Medicina de España (RANM)

En 19 de noviembre de 1991 el Prof. Fernández-Tresguerres ingresa como Académico de Número en la RANM, ocupando la Medalla num. 47 de Endocrinología Experimental, con el discurso

Fisiología y Aplicaciones de la Hormona de Crecimiento: ayer, hoy y mañana. Dentro de sus muchas actividades dentro de la RANM d destacaría su intensa actividad en la FEAM (*Federation of European Academies of Medicine*), de la cual ha llegado a ser Presidente entre 2012 y 2015, lo que le ha permitido estrechar lazos con autoridades científicas y académicas europeas.

Precisamente durante su trabajo en la FEAM le permitió profundizar en el concepto de que la separación de la Sanidad humana de la Sanidad animal es un hecho artificial que carece de sentido. Cada vez se habla más de una sanidad única (*one Health*), un concepto concebido para que profesionales de diversas especialidades que desarrollan una labor activa en diferentes sectores, como la salud pública, la salud animal, la salud vegetal y el medio ambiente, unan sus esfuerzos para mejorar la salud pública. En este sentido cobra máximo interés incorporar las Academias de Medicina y de Veterinaria de varios países europeos para formar de facto una unidad de actuación en el ámbito de la Salud.

Su actividad difusora de la Fisiología y de la ciencia en general

El Prof. Fernández-Tresguerres es autor de 24 libros sobre Fisiología y Endocrinología, entre los que destacan la primera *Neuroendocrinología* escrita en castellano (Salvat, Barcelona 1985); *Fisiología Endocrina* (Ed. Eudema, Madrid 1989), *Retrasos del Crecimiento* (Ed. Díaz de Santos, 1ª ed. 1992, 2ª ed. 1996); tratado de *Fisiología Humana* (Ed. McGraw-Hill Interamericana, 1ª ed 1992, 2ª ed. 1999, 3ª ed. 2005, 4ª edición 2010 y 5ª edición en 2020), un tratado de *Endocrinología Básica y Clínica* (Ed. Síntesis, Madrid 2000), y dos ediciones de un tratado sobre *Medicina Estética y Anti-envejecimiento* (Ed. Panamericana, Madrid 2012 y 2018). El libro *Fisiología Humana* (McGraw-Hill Interamericana de España S.L.) se considera de referencia en todas la Facultades de Medicina de España y Latinoamérica. Esta intensa actividad evidencia la gran capacidad de trabajo y de liderazgo del Prof. Fernández-Tresguerres Hernández.

De su discurso

Nuestro Académico comienza su discurso recordando que la investigación biomédica viene utilizando modelos animales desde hace más de un siglo, para conocer mejor no sólo la fisiopatología, sino también para diseñar sobre bases racionales el tratamiento de muchas enfermedades. De la lectura de su Discurso queda patente que el Prof. Fernández-Tresguerres ha utilizado un amplio repertorio de modelos animales y, en ocasiones, ha puesto a punto nuevos modelos animales, algunos extraordinariamente complejos, que eran necesarios e idóneos para poder abordar los diferentes temas científicos objeto de su interés.

Recuerda que durante los años setenta del pasado siglo su grupo decidió estudiar el control de la secreción de gonadotropinas (LH y FSH) y el papel que podía desempeñar la prolactina como sustancia inhibidora de las mismas. Para poder analizar este problema se necesitaba disponer de un modelo experimental de hiperprolactinemia y para ello realizaba el trasplante heterotópico de una o dos hipófisis debajo de la capsula renal en ratas Wistar utilizando hermanos de una misma camada como donantes y receptores para evitar un posible rechazo. De esta forma, al estar fuera de la influencia inhibitoria de la dopamina hipotalámica, la hipófisis trasplantada producía grandes cantidades de prolactina. También desarrolló una bomba para la infusión pulsátil de LHRH para el tratamiento de la infertilidad y los hipogonadismos, que dió lugar una patente internacional.

Para estudiar las interacciones entre el eje adrenal y eje hipotálamo-hipofisario-testicular utilizaba un modelo de estrés por inmovilización que conducía a una marcada hiperplasia adrenal con aumento de la secreción de corticosterona y una reducción de la producción de testosterona testicular. Para el estudio de la menopausia ha utilizado ratas Wistar hembra de 24 meses castradas a los 12 meses. La rata Zucker fue utilizada para estudiar no sólo el hígado graso, sino también los efectos de isquemia-reperfusión hepática, y para estudiar la isquemia cerebral ha utilizado ratas Wistar en las que practicaba la oclusión de la arteria cerebral me-

dia derecha. En este último modelo ha analizado los efectos de la melatonina sobre la lesión isquémica inducida.

Para estudiar el papel de las prostaglandinas renales en el control de la presión arterial, utilizaba el modelo de dos riñones-1 clip, observando que el aceite de girasol reducía la presión arterial al facilitar la producción de prostaciclina, mientras que el aceite de coco, precursor de leucotrienos y $\text{PGF}_{2\alpha}$, agravaba la hipertensión. Es interesante reseñar que este modelo de hipertensión arterial cursa con niveles altos de renina, por lo que era idóneo también para estudiar los efectos de los inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona que se empezaron a desarrollar por entonces.

En los años noventa, su grupo pretendió demostrar que la glándula parótida transplantada al lugar de asentamiento de la hipófisis en la silla turca esfenoidal era capaz de transdiferenciarse y convertirse en una auténtica hipófisis. El trasplante de la glándula parótida a la silla turca del esfenoides me ha permitido recordar al Dr. Ramón Álvarez Buylla, un excelente asturiano exilado en México, quien me había explicado sus experimentos y me ofreció su casa durante mi estancia en este país en 1975. El truco era que había conseguido que toda la sangre que le llegaba a la parótida transplantada procediera sólo del hipotálamo (¡ casi nada !). El trasplante fue un éxito y prueba de ellos es que al cabo de unos meses pudieron medir los niveles plasmáticos de LH y FSH y TSH y la aparición de ciclos estrales en las ratas así transplantadas.

Para estudiar el crecimiento óseo el Prof. Fernández-Tresguerres en colaboración con el Dr. Michael Hermanussen de la Universidad de Kiel (Alemania) desarrolló una nueva técnica somatométrica para medir la longitud de la tibia en ratas conscientes mediante un aparato denominado microknemómetro que permite estimar su crecimiento cada 4 horas. De esta manera pudo comprobar que no solo la secreción de GH, sino también el crecimiento es pulsátil, no lineal, alternándose procesos de progresión e, incluso, de retroceso.

Por otro lado, el conejo ha sido la fábrica para obtener anticuerpos específicos que permitían al grupo del Prof. Fernández-Tresguerres determinar los niveles hormonales de corticosteroides, LHRH, CRH o GHRH por radioinmunoensayo, de esta forma, profundizar en el conocimiento de la fisiopatología de la regulación hormonal en diversas situaciones. En conejas desarrolló un modelo de osteoporosis tras castración asociada a ingesta reducida de calcio, que le ha permitido estudiar el efecto osteogénico de GH, melatonina o resveratrol. También ha utilizado tanto la calota de ratas como la tibia de conejas castradas para investigar de que forma se puede acelerar el proceso de osteointegración de los implantes de titanio utilizados por los estomatólogos y de los implantes de distintos materiales para aumentar la regeneración ósea, tema de indudable interés en traumatología.

Para el estudio del envejecimiento ha utilizado dos modelos: ratas Wistar de 24 meses y el ratón SAMP8 que presenta un envejecimiento acelerado, por lo que sólo hay que esperar 10 meses, en vez de los 24 meses de la rata Wistar, para poder iniciar los experimentos. En estos modelos ha analizado el papel de las hormonas del eje somatotropo, GHRH, GH, IGF-I responsables del crecimiento somático, estrógenos, vitamina E, melatonina, fitoestrógenos y antioxidantes (como resveratrol y xanthohumol).

En la última parte de su discurso hace referencia a los «ratones humanizados» desarrollados originalmente por el Dr. Tatsuji Nomura en el Instituto Central de Animales de Experimentación de Tokio, que el Prof. Fernández-Tresguerres considera que pueden ser unas herramientas muy útiles en el proceso de desarrollo de fármacos.

En resumen, nuestro nuevo Académico ha realizado un discurso en que los modelos animales son la muleta que le ha permitido recordar los principales hitos que han ido marcando la hoja de ruta de más de 40 años de investigación de un médico enamorado de su profesión y que le han

permitido profundizar en el conocimiento de los mecanismos implicados en la regulación fisiopatológica de diversas patologías endocrinológicas, cardiovasculares y osteoarticulares o de los procesos de crecimiento y envejecimiento, el alfa y el omega de la vida.

Palabras finales

Excmos. Sras. y Sres. Académicos, con esta breve semblanza he pretendido aproximarles a la personalidad, trayectoria y méritos científicos, docentes y universitarios de nuestro nuevo académico. La vida y la actitud ante la vida del Prof. Jesús Fernández-Tresguerres es en sí misma una lección de comportamiento ejemplar que nos invita a imitarlo. Querido Jesús, te incorporas hoy como Académico de Número a la Real Academia de Ciencias Veterinarias de España. Vas a respirar en nuestra Corporación aires de verdadera amistad y fraternal convivencia, tolerancia y sinceridad. Juntos abrazamos una empresa común, la salud, que exige un esfuerzo conjunto de todos nosotros. Tengo la seguridad de que hoy la Academia recibe a un gran científico y a una gran persona que no vacilará en aportar su sabiduría y capacidad de trabajo para el engrandecimiento de esta Institución, que desde hoy es tu casa.

He dicho.

