

A BIOQUÍMICA NO FINAL DO MILENIO. UN SÉCULO DE HISTORIA

*Manuel Freire Rama**
Universidade de Santiago
de Compostela

PREÁMBULO

En poucos casos a traxectoria dunha ciencia pode asignarse a un período tan curto coma no caso da Bioquímica: o século XX comprende o período do seu nacemento e tamén o da súa consolidación a un moi elevado nivel.

Estamos, entón, diante da máis nova pero se cadra a máis desenvolvida rama das ciencias da vida. A súa competencia na caracterización das reaccións que experimentan as moléculas que compoñen as células para dar lugar á súa actividade biolóxica e, polo tanto, á de tódolos seres vivos, fai que se constitúa nunha ciencia básica á que hai que recorrer para explica-lo fundamento do crecemento, o desenvolvemento e ata a enfermidade e morte dos organismos. Entroncan nela outras ramas das ciencias da vida, especialmente a Microbioloxía, a Xenética e a Fisioloxía.

Pola transcendencia dos seus obxectivos, enténdese a súa importancia e tamén a razón do seu espectacular desenvolvemento, especialmente nos últimos lustros deste século. A influencia que o coñecemento dos procesos biolóxicos ten na nosa sociedade, ó permitir incidir neles para a produción de alimentos, de fármacos e para remedialas súas patoloxías, proporciona importantes argumentos para xustificala relevancia dos estudos bioquímicos.

Neste artigo ímonos introducir, coa síntese que isto require, nas vicisitudes desta ciencia ó longo do século XX, que coincide coa súa propia historia. Aínda que foron moitos os implicados —cunha morea de achegas que contribuíron á promoción do desenvolvemento científico da Bioquímica— referirémonos, en prol da síntese antes apuntada, ós personaxes e fitos científicos máis relevantes. O que, de xeito ningún, pode significar un menosprezo dos centenares de científicos e descubrimentos que marcan a historia da Bioquímica.

* Catedrático de Bioquímica e Bioloxía Molecular.

AS ORIXES

A Bioquímica ten a súa xénese na adecuación da Química orgánica ós procesos biolóxicos, ó estudio das funcións do organismo vivo. Segundo isto, a Bioquímica aparece como unha ciencia confluyente cos estudos químicos e fisiolóxicos dos seres vivos. O preludio desta xénese lévanos contra mediados da segunda metade do século XIX, tempo no que o coñecemento dos constituintes químicos da materia viva xa acadaban un certo nivel. É a partir deste incipiente coñecemento cando, xa no ocaso do século XIX, se sentarían as bases para consolida-lo nacemento da Bioquímica.

Así, o termo Bioquímica foi introducido por primeira vez en 1903 polo alemán Carl Neuberg (que, como veremos máis adiante, foi o creador dunha formidable escola de investigadores bioquímicos) para designa-las súas achegas, e mailas doutros, no eido da caracterización das estruturas dos compoñentes das células e a súa función dentro delas.

Por todo isto, é importante facer unha breve recapitulación do estadio no que, a finais do século XIX, se atopaba o coñecemento da composición química da materia viva e en estudos que tiveran a súa orixe na análise química dos alimentos, no estudio dos compoñentes do corpo humano, dos microorganismos e nos métodos da síntese química.

O coñecemento da composición química dos seres vivos nace co propio século XIX. Así, cos traballos de Gay Lussac e Thénard, arredor de 1811, nos que se determina a composición elemental do azucre de cana, iníciase o estudio dos hidratos de carbono como compoñentes da materia viva. Case dúas décadas máis tarde, en 1827, os traballos do médico inglés Willian Prout permitiron progresar neste coñecemento ó establecer que os alimentos contiñan, amais de hidratos de carbono, graxas e uns compoñentes que se denominarían, unha década máis tarde (1838), proteínas; así que xa na primeira metade do século XIX, as proteínas considerábanse moléculas primordiais dos seres vivos. Mulder, en 1838, describe as 'proteínas' como 'os primeiros' dos compoñentes do sangue, ovos e queixo.

Os ácidos nucleicos non foron descubertos ata avanzada a segunda metade do século XIX. Miescher illou por primeira vez o ADN en 1869. Quedaba un longo camiño por percorrer ata chegar a establece-las estruturas dos principais compoñentes químicos da materia viva, as proteínas e os ácidos nucleicos, o que non se lograría ata as primeiras décadas do século XX. É, polo tanto, comprensible que a Bioquímica non acadara un desenvolvemento importante ata eses anos.

Sen embargo, a idea de relaciona-la composición da materia viva coa actividade biolóxica xa aparece incipientemente no mesmo século XIX, cando aínda estaban a aflora-los

coñecementos dos tipos moleculares presentes nela. A isto contribuía a propia observación da natureza, que diversos e importantes científicos fixeron cos precarios medios daquela dispoñibles. Así, o estudio de procesos como a combustión, a respiración, a nutrición, constituíron fontes de importante promoción do coñecemento: o ciclo do carbono en animais e plantas, establecido por Justus Von Liebig; a relación entre combustión e respiración, co desprendemento de CO_2 , descuberto por Lavoisier; o proceso de acción dos zumes gástricos, que levou a Berzelius, en 1835, a introducir o termo 'catálise' para designa-lo proceso de degradación dos alimentos.

O estudio da catálise promoveu o desenvolvemento da teoría da acción das enzimas, ó coñecemento das cales contribuirían de xeito determinante os estudos de Emil Fischer en 1852, pioneiros en recoñece-los catalizadores como proteínas que exercen a súa acción por unha adecuada interacción das enzimas cos substratos que se catalizan: a teoría da chave-pechadura. O termo enzima, para referirse a estes catalizadores biolóxicos, foi máis tarde introducido por Kühne, en 1878.

Outra das achegas que, no século XIX, axudaron a consolidar-las bases sobre as que se fundamentaría o desenvolvemento da Bioquímica e da propia Bioloxía no século XX, foi a teoría da organización celular, que Schwann presentou en 1836: os 'gránulos celulares' como contedores unitarios dos procesos químicos da materia viva. O

mesmo Schwann, tres anos máis tarde, aplicaría o termo 'forza metabólica' para designa-los procesos nas células: introducíase o termo 'metabolismo' co sentido actual. Con todo isto, o sistema biolóxico sobre o que, de forma extraordinaria, recaería a atención bioquímica naqueles anos foi a fermentación; tal vez pola transcendencia social que tiña —e segue tendo— a preparación de produtos tan importantes para os nosos hábitos nutricionais como son o pan, o viño, o queixo, etc.

Desde finais do século XVI, cando o belga Jan Baptiste Van Helmot, discípulo de Paracelso, descubriu o desprendemento de CO_2 na fermentación da uva e da malta, ata ben entrado o século XX, a fermentación de extractos e zumes biolóxicos ocupou a dedicación de decenas de investigadores, mesmo nos anos —especialmente do século XIX— nos que, a pesar do apreciable avance no coñecemento dos compoñentes químicos dos seres vivos aínda se andaba lonxe de establece-las súas relacións coa actividade biolóxica.

O estudio do proceso da fermentación do extracto de uva por Pasteur, Schwann e outros, levou a mediados do século XIX a establecer que a fermentación estaba ligada á presenza dos lévedos; os 'fermentos' eran estes microorganismos que se multiplicaban como causa da fermentación. Estas observacións significaban un soporte para a teoría vitalista (a vida como resultado dunha forza vital 'sobrenatural' presente dentro dos organismos) inoperante na primeira metade do

século XIX. Sen embargo, a conclusión á que Liebig e Berzelius chegan no seu estudio —xa entrada a segunda meta-

de do século XIX—, de que a fermentación era un proceso químico, alentaba a rotura do vitalismo.



Pasteur no seu Laboratorio. Gravado de The Graphic, 1885.

A investigación da fermentación non só ía romper de vez co modelo vitalista na Bioloxía senón que, no último lustro do século XIX, ía revolucionalo propio estudio desta ciencia; a isto contribuíu o experimento de Eduard Buchner, que conseguiu (1897) reproducir a transformación da glicosa en alcohol utilizando extractos de lévedos. Demostrábase que a ‘vida’ podía saír das células. Podíanse reconstruír *in*

vitro os procesos que as células realizaban *in vivo*, dentro delas.

O extracto de lévedos de Buchner, denominado entón ‘zimasa’, foi obxecto de intensa investigación nos primeiros anos do século XX. Investigación diversificada na caracterización dos compoñentes da zimasa e da propia fermentación, así como da súa función no proceso: nacía a Bioquímica.

A CONSOLIDACIÓN. A PRIMEIRA METADE DO SÉCULO XX

A Bioquímica consolídase como importante ciencia da vida nos primeiros cincuenta anos dos século XX. A resolución de varios retos que na Bioloxía se consideraban importantes, prioritarios, a xuízo das achegas debidas ás investigacións biolóxicas do século XIX: a caracterización das reaccións enzimáticas e das estruturas das proteínas, así como a resolución do proceso da fermentación, foron logros que consolidaron a súa posición.

DA REACCIÓN ENZIMÁTICA ÁS RUTAS METABÓLICAS

Cronoloxicamente, a caracterización da reacción enzimática foi o primeiro dos importantes retos resoltos pola investigación bioquímica; foron básicos os traballos pioneiros de Berzelius e Emil Fischer. De maneira que, o que hoxe coñecemos como mecanismos cinéticos —transformación dos substratos por interacción específica coa enzima, a través de complexos enzima-substratos dos que se xeran os produtos das reaccións bioquímicas— e como ecuacións e constantes cinéticas —que permiten a rápida e fácil caracterización das posibilidades catalíticas e regulatorias das enzimas— foron establecidos na primeira década do século XX.

Diversas liñas de traballo, de diferentes grupos, contribuíron a todo isto. A purificación de enzimas, iniciada por Richard Willstätter; a caracterización

do complexo enzima-substrato para a catálise por Henry e Brown; a teoría do estado estacionario e o desenvolvemento das ecuacións cinéticas achegadas por Biggs, Haldane, Menten e Michaelis, entre outros, fixeron que xa en 1913 se chegara a un elevado grao de coñecemento da reacción bioquímica.

As constantes achegas que, a partir destes anos, se fixeron sobre a base do illamento e purificación de moitas enzimas —incluída a cristalización dunha delas por Summer en 1926, a ureasa— permitiron afondar no coñecemento dos procesos metabólicos; estableceuse que estes non eran máis que unha concatenación de reaccións enzimáticas que compartían substratos e produtos, e que os datos obtidos nos laboratorios eran perfectamente extrapolables ás reaccións metabólicas *in vivo*. O paradigma do estudio do metabolismo —non podía ser doutro xeito— constituíuno a investigación da fermentación, que foi a primeira ruta metabólica estudiada. Era todo un desafío á habilidade investigadora o establecer cómo aquel extracto conseguido ó triturar levaduras nun morteiro e suspendido nun medio acuoso, é dicir, a ‘zimasa’ de Buchner, era quen de transforma-la glicosa en etanol. O alemán Carl Neuberg e os seus discípulos Embden, Mayerhof e Parnas levaron a cabo os primeiros traballos de dilucidación das reaccións polas diferentes enzimas contidas na zimasa capaces de transforma-la glicosa en dúas moléculas de etanol e dúas de

anhídrido carbónico. Esta ruta denomínase glicólise.

O completo coñecemento das reaccións bioquímicas desta ruta esencial para tódolos seres vivos non se tivo ata ben entrados os anos corenta. A isto tamén contribuíron bioquímicos das escolas alemáns. Alemaña lideraba daquela a maior parte das diferentes ramas da ciencia, como é sabido. Así, Warburg, Kalchauer, Lipman, ós que se uniu Ochoa (foi discípulo de Meyerhof), contribuíron a completa-lo moi importante aspecto enerxético da glicólise, concretada na síntese da molécula enerxética por excelencia: o ATP (descuberto en 1929 por Fiske e Subbarow). Estableceuse, ademais, que a síntese de ATP era a finalidade primordial da glicólise e diferenciouse a eficiencia deste proceso en distintos organismos aerobios e anaerobios. Canda os estudos da glicólise, nas primeiras décadas do século XX, progresaron de xeito notable os estudos doutras facetas do metabolismo das células tales como o metabolismo do glicóxeno, brillantemente descuberto por Carl e Greta Cori no seu laboratorio de St. Louis; o estudo das transformacións das graxas e dos ácidos graxos, de Knoop, Lypman e Lynen; dos aminoácidos por Embden e Knoop; do ciclo da urea por Krebs e Henseleit; e do ciclo do ácido cítrico, bautizado como ciclo Krebs, que na súa Alemaña de orixe e logo en Inglaterra, lograra establece-la degradación cíclica do acetil-coenzima A, aínda que as súas principais reaccións foran descubertas por Ochoa (xa

nos Estados Unidos) e algunhas por Knoop e Szent-Györgyi.

Xunta o estudo das transformacións metabólicas dos compoñentes celulares menos complexos (azúcre, graxa, aminoácidos), ou o que se denominou metabolismo intermediario, unha intensa actividade investigadora foi tamén despregada na primeira metade do século no estudo da fotosíntese. Así os traballos pioneiros de Hill, Warburg, Ochoa, Horecker, Calvin e Arnon, principalmente, chegaron a establece-los mecanismos polos que as células vexetais, nas reaccións localizadas nos seus cloroplastos, eran capaces de, co simple recurso externo da auga, do anhídrido carbónico, de compoñentes minerais e da luz, producir enerxía biolóxica (ATP) para xera-la síntese de azúcre, graxas, aminoácidos, etc., é dicir, tódolos nutrientes. A fábrica biotecnolóxica máis formidable e barata. Debemos apuntar que hoxe en día o home abondaríalle con conserva-la conforme nola deu a natureza, máis que incidir na manipulación de procesos dos que se consegue un rendemento e eficaz aproveitamento co simple coidado e prevención da agresión e a contaminación ambiental.

A ESTRUCTURA DAS PROTEÍNAS

Unha faceta da investigación bioquímica que debemos salienta-la pola súa especial transcendencia, e que se desenvolveu paralelamente ó estudo do metabolismo na primeira metade do século XX, é o estudo estrutural das proteínas. A súa importancia

queda claramente resaltada ó ser estes compoñentes celulares os responsables das diferentes reaccións bioquímicas, por constituírense nas estruturas das propias enzimas.

A complexidade estrutural das proteínas é facilmente deducible por estar formadas por vinte aminoácidos diferentes que, en distinta proporción e orde, se concatenan por centos nas proteínas. A isto hai que engadi-la presenza de decenas de miles de especies moleculares de proteínas diferentes nas células. É fácil acredita-lo mérito que tiveron, a teor dos medios dispoñibles, as achegas sobre a estrutura das proteínas aparecidas nas primeiras décadas do século XX.

O estudio das estruturas das proteínas iniciouse nos primeiros anos do século XX (1905-1920); partindo da análise dos seus hidrolizados —levados a cabo por Haberman, Schützenberg e Fischer— estableceuse a súa composición por aminoácidos. O propio Fischer e mais Hofmeister propuxeron a teoría da concatenación peptídica da estrutura das proteínas (os aminoácidos ligaríanse por enlaces similares ós das peptonas, de aí o seu nome de estrutura peptídica). A consideración das proteínas como macromoléculas, con tamaños superiores á vintena de aminoácidos concatenados, foi introducida por Standinger e Swedberg; a teoría foi moi controvertida naqueles anos, tanto que Standinger recibiu o premio Nobel en 1953, trinta e tres anos máis tarde da súa proposta.

Rematando a primeira metade do século XX, a aplicación das técnicas de difracción de raios X a proteínas cristalizadas propiciaría un espectacular avance no coñecemento da estrutura das proteínas. De acordo coa distancia entre os átomos e grupos de átomos destas moléculas, obtidas por raios X, e apoiándose na construción de modelos moleculares a escala das distancias atómicas, o americano Linus Pauling propuxo os modelos de distribución espacial da cadea de proteínas: as hélices α . A forma que adoptarían as concatenacións de aminoácidos é a dunha hélice, coma unha escaleira de caracol. Este modelo demostrouse, co tempo, xeneralizado á maioría das proteínas, aínda que agora sabemos que estas conformacións en hélice α coexisten con outras menos abundantes, descubertas naqueles anos, correspondentes a interaccións entre cadeas de proteínas de disposición lineal: lámina β (ou β -queratina) e as distribucións espaciais irregulares sen unha figura xeométrica definida.

Os relevantes traballos pioneiros de Pauling sobre as estruturas das proteínas, non só abriron o camiño para a análise estrutural das proteínas, cada vez máis de actualidade, senón que foron referencia clave para a determinación da estrutura do ADN, que máis adiante veremos.

Sen embargo, o coñecemento da distribución espacial dos átomos dunha proteína é só unha parte da cuestión referida á estrutura da molécula. A outra, e moi importante, é o

coñecemento da súa estrutura primaria: o número e a orde en que os aminoácidos se dispoñen na cadea que constitúe a proteína. Coa secuenciación da primeira proteína, a insulina, por Sanger, no ano 1951, consolidaríase a laboriosa metodoloxía para coñece-la estrutura primaria das proteínas.

Nas primeiras décadas do século XX, prodúcese unha importante consolidación da Bioquímica; o coñecemento do funcionamento das proteínas, os hidratos de carbono, lípidos, aminoácidos e outras moléculas pequenas dentro das células acadou un importante nivel. A progresión no esclarecemento das estruturas de moitas das proteínas celulares e o descubrimento das estruturas e función dos ácidos nucleicos, que se produciría nos primeiros anos da segunda metade do século XX, propiciarían un espectacular progreso no coñecemento non só do resultado de moitas rutas metabólicas, senón dos detalles dos seus mecanismos moleculares.

O GRAN DESENVOLVEMENTO. A SEGUNDA METADE DO SÉCULO XX

Malia o nivel de coñecemento do metabolismo alcanzado na primeira metade do século XX, era completamente descoñecida a orixe molecular das proteínas, así como a estrutura e a función celular dos ácidos nucleicos.

Desde os experimentos de Mendel, en 1866, nos que se apuntaba unha relación entre determinados

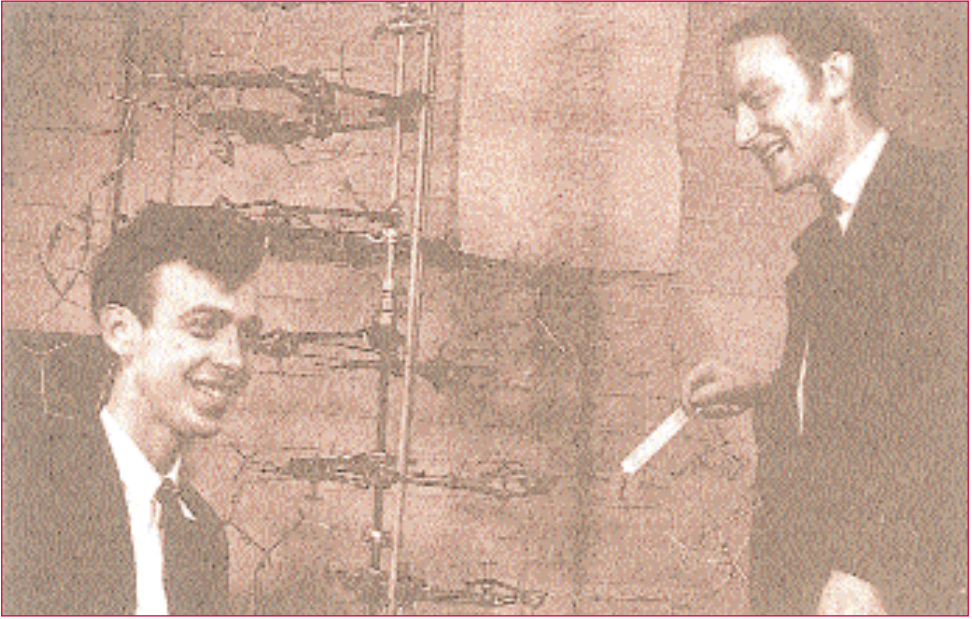
factores xenéticos e os trazos hereditarios dos individuos, ata os traballos de Beadle e Tatum en 1940, que establecían unha directa relación entre unha estrutura xenética básica: un xene, e a produción dunha enzima, pouco se avanzara no coñecemento de estruturas dos ácidos nucleicos e no esclarecemento da súa función celular ou a produción de enzimas.

As observacións de Linus Pauling a finais dos anos corenta sobre a estrutura das globinas dos individuos coa anemia falciforme, que confirmaban unha relación entre mutación xenética e alteracións da secuencia de aminoácidos das proteínas, e o coñecemento de que o ADN —descuberto por Miescher en 1869— estaba constituído por cadeas de nucleótidos, permitiron establecer, entrado o ano 1950, a colinearidade entre secuencia de nucleótidos do ADN e secuencia de aminoácidos das proteínas.

A DOBRE HÉLICE

No ano 1953 presentaríase un resultado que ía propiciar unha espectacular aceleración na investigación bioquímica dos ácidos nucleicos e as proteínas. Nese ano, James D. Watson e Francisc Crick publicaron na revista *Nature* as conclusións do seu traballo sobre o modelo estrutural do ADN: a dobre hélice.

Baseándose nos datos de difracción de raios X de cristais de ADN bacteriano obtidos por Wilkins e Franklin, e seguindo unha metodoloxía de

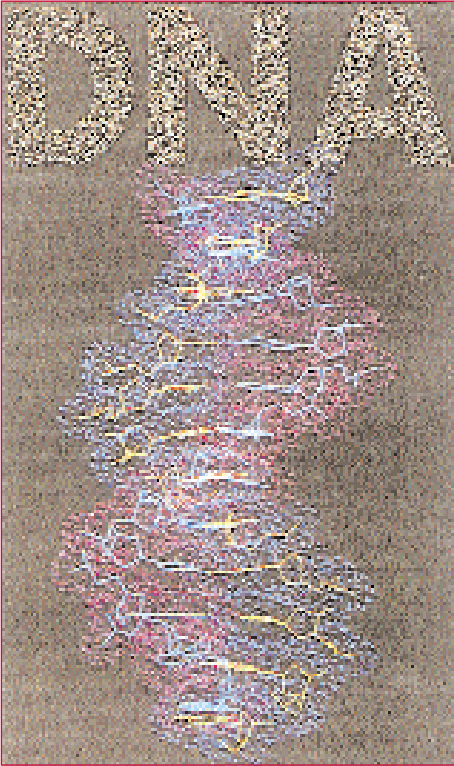


Os doutores James Dewey Watson e Francis Harry Compton Crick pasan xunta un modelo a escala da estrutura do DNA descuberta por eles.

construcción de modelos a escala, tal como fixera Pauling para establece-los modelos estruturais das proteínas, nos laboratorios da Universidade de Cambridge, propuxeron unha estrutura para o ADN consistente nunha dobre cadea enfrontada, en dirección antiparalela, e mantida como unha dobre hélice por emparellamento de bases A-T e G-C mediante enlaces de pontes de hidróxeno.

O modelo permitía explica-la reprodución celular, na cal os caracteres xenéticos, os xenes do ADN, eran transmitidos fielmente pola súa duplicación semiconservativa. Un cromosoma era fielmente copiado, de maneira

que cada un dos cromosomas xerados conservaba unha febra do orixinal, pasando cada copia a cada unha das células nacentes. Esta situación reproducíase tanto na xeración de organismos unicelulares coma nos embrións dos organismos superiores. Precisamente, como se foi coñecendo ó longo dos seguintes anos, un dos éxitos do modelo de Watson e Crick era a súa universalidade, que respondía ás características estruturais do ADN presente en todo tipo de células. Da mesma maneira, os estudos da síntese de ADN, a replicación, iniciados por Arthur Kornberg uns anos máis tarde, viñeron a demostra-la universalidade



Visión coloreada no ordenador dunha cadea de DNA enroscada en dobre hélice.

das reaccións bioquímicas básicas implicadas neste proceso nos diferentes tipos celulares. De novo, como ocorría co metabolismo da glicosa ou outros nutrientes, constatabase a universalidade dos principios básicos de igualdade da estruturación e actividade das moléculas dos seres vivos.

A EXPRESIÓN XÉNICA

Quedaba por resolver, sen embargo, unha importante cuestión: a

relación bioquímica entre o ADN, os xenes e as proteínas. A asignación do papel biolóxico do ARN, xa entrados os anos sesenta, ía esclarece-los mecanismos moleculares desta relación.

Os ácidos ribonucleicos (ARN), descubertos nas primeiras décadas do século XX, non foron caracterizados nos diferentes tipos que hoxe coñecemos: ARN mensaxeiro (ARNm), ARN ribosómico (ARNr) e ARN transferente (ARNt) ata mediados os anos sesenta. O descubrimento en 1956 do ARNm por Volkin e Astrachan, como unha molécula que contiña unha secuencia fiel a unha febra do ADN, marcou o inicio da caracterización da expresión xénica, proceso que foi totalmente determinado en menos dunha década. A expresión xénica, a capacidade dun xene para ordena-la síntese dunha proteína era o resultado da produción dun ARNm por unha das febras do ADN cunha secuencia de nucleótidos que era traducida, a continuación, nunha secuencia concreta de aminoácidos dunha proteína, mediante unha ruta metabólica realizada nos ribosomas, coa participación do ARNt e do ARNr e cun mecanismo esencialmente idéntico en tódolos seres vivos.

É admirable que a dilucidación da concatenación de reaccións bioquímicas, moi complexas, que dan lugar á expresión dun xene, se resolvera en tan curto período de tempo, polo menos nos seus aspectos moleculares máis esenciais. O máis notorio das achegas que permitiron establece-la relación funcional do ADN coa síntese de

proteínas, poderíamos resumilo en tres grandes liñas experimentais: a presentación do mecanismo molecular da expresión dun xene nunha bacteria, o establecemento do código xenético e o descubrimento da ruta metabólica para a síntese das proteínas nos ribosomas.

A descrición da expresión xénica da β -Galactosidasa publicada por Francois Jacob e Jacques Monod, en 1961, na que se delineaba a síntese intermedia dun ARNm e a produción da proteína codificada por el, marcou un fito na demostración das vías metabólicas que conducían á relación do ADN coa síntese dunha proteína.

Canto ó código xenético, a relación das secuencias de nucleótidos do ADN capaces de codificar, de dirixir, a presenza dun aminoácido determinado na secuencia dunha proteína, foi establecido entre 1962 e 1966 nunha carreira vertixinosa e competitiva de experimentación dos grupos de Nirenberg e Ochoa. A experimentación converxeu na conclusión dun código de transmisión xenética, na que se establecía que cada aminoácido dunha proteína resultaba codificado por un triplete universal de nucleótidos, resultado da combinación de tres dos catro nucleótidos diferentes presentes no ADN, coas bases: adenina, citosina, guanina e timina, de todos coñecidas. Os traballos de síntese química de Khorana e de análises xenéticas de Crick contribuíron a corroboralos resultados de Nirenberg e Ochoa.

A ruta metabólica para a síntese de proteínas implica a culminación do proceso da expresión dun xene, no que se produce a tradución da 'mensaxe' implícita na secuencia de nucleótidos dun ARNm nunha secuencia de aminoácidos dunha proteína, pola mediación dos ARNt (transportadores de aminoácidos e 'adaptadores' da secuencia do ARNm á da proteína que vai ser sintetizada) e dos ARNr presentes nos ribosomas, orgánulos que constitúen a 'mesa de traballo' na que se realiza a síntese de proteínas. Varios son os grupos de investigadores que, cos seus traballos, favoreceron o esclarecemento dos mecanismos moleculares desta ruta metabólica, a principios dos setenta. O grupo de Severo Ochoa foi o máis notable deles.

O FINAL DO MILENIO E O FUTURO

Chegado o derradeiro cuarto do século, establecérase a forma na que os ácidos nucleicos se implicaban na actividade celular completando o que poderíamos denominar 'cadro metabólico das células', de forma que se daba resposta, a nivel molecular, á antes denominada forza vital dos seres vivos, incluída a súa capacidade para transmitir e conserva-los seus caracteres xenéticos. Pero o avance do estudio bioquímico tiña por diante a resolución de varias cuestións aínda moi transcendentales. Era coñecida a replicación do cromosoma, pero, ¿que eventos moleculares gobernan a súa regulación e o proceso da división das células, básico

na reprodución e mesmo no mantemento dos organismos?, ¿por que morren e envellecen as células?, ¿cal é a orixe molecular das enfermidades? Moitas preguntas para ser completamente resolvidas na última vintena do milenio. A pesar disto, logrouse afondar en varias delas de xeito notable durante eses anos. Tamén o derradeiro cuarto de século foi especialmente xeneroso na incorporación de novas metodoloxías que foron decisivas para dar un gran pulo á investigación bioquímica. En resumo, poderíamos sinala-la introducción das técnicas inmunolóxicas, o uso de anticorpos dirixidos contra as estruturas das diferentes proteínas purificadas das células, que constitúen un excelente instrumento para caracteriza-los mecanismos da súa actividade bioquímica. O método baséase na alta e selectiva especificidade que os anticorpos posúen para recoñece-las proteínas das que derivan. Mencionemos, de pasada, a utilidade dos anticorpos con finalidades terapéuticas no control de infeccións.

Sen embargo, a metodoloxía do ADN recombinante é, sen dúbida, a estrela no referente á achega de forza innovadora á investigación bioquímica. Utilizando enzimas e substratos implicados no metabolismo dos ácidos nucleicos, e incorporando ademais as enzimas de restricción (descubertas por Arber en 1962 e purificadas por Nathaus e Smith unha década máis tarde), así como a transfección e crecemento de plásmidos bacterianos, os grupos de Boyer, Cohen e Berg

desenvolven as técnicas de clonación do ADN nos seus laboratorios nos Estados Unidos a mediados dos anos setenta.

En síntese, a clonación do ADN permite a multiplicación selectiva de parte de cromosomas da célula, especificamente útiles, como os que corresponden ás estruturas dos xenes que posúen a información para a biosíntese dunha determinada proteína. A isto hai que engadir que, paralelamente ó desenvolvemento das técnicas de clonación do ADN, o inglés F. Sanger (que secuenciara por primeira vez unha proteína, a insulina, unha vintena de anos antes) e os americanos Maxam e Gilbert, desenvolveron a metodoloxía para a secuenciación do ADN. Con todo isto propiciouse a rápida selección e secuenciación dun xene e dispúxose entón dun formidable medio para caracterizar non só os xenes, senón as secuencias das proteínas que estes codifican. Temos que advertir que a secuenciación automática dunha proteína completa, aínda hoxe en día, é inaccesible en períodos de tempo inferiores a varios anos. A secuenciación de fragmentos de proteínas, da orde da vintena de aminoácidos, nos secuenciadores automáticos, é posible en poucas horas. Esta posibilidade é suficiente referencia, sen entrar en detalles, para deduci-la súa completa estrutura primaria a partir dos datos de secuenciación do ADN do seu xene.

O uso da metodoloxía do ADN recombinante non só acelerou o coñecemento das estruturas das proteínas

e os xenes, senón que permitiu incidir de forma determinante na expresión xénica, chegando á súa manipulación *in vivo*. A produción de ADN recombinado en vectores (virus ou plásmidos) que poden ser introducidos nas células para inhibir ou activar nelas a expresión dunha proteína concreta ou integrarse ó xenoma celular abriu un abano de posibilidades para perfeccionalo coñecemento das actividades bioquímicas das proteínas. A súa utilidade chegou a posibilita-la 'reparación' de disfuncións en diversas patoloxías, ou á xeración de individuos transxénicos, pola alteración dirixida dun xene en células xerminais. O que nos conduce ó mundo, xa popularizado, da 'terapia xénica', aínda nun incipiente grao de experiencia.

A metodoloxía da reacción en cadea da polimerasa (PCR), introducida por K. Mullis en 1985, e coa que, en esencia, se consegue a rápida multiplicación selectiva de fragmentos de ADN, veu a enriquece-las posibilidades de análise e manipulación do propio ADN.

Coas novas e as clásicas metodoloxías avanzouse significativamente no coñecemento dos procesos bioquímicos que permiten e controlan a división das células, e tamén a súa morte. De maneira que se demostrou que tanto a división das células como a súa morte biolóxica (coñecida como apóptose) son procesos nos que interveñen centenaes de proteínas, moitas delas xa coñecidas, e constitúense en actividades metabólicas localizadas en diferen-

tes partes das células que se coordinan e regulan de acordo con sinais moleculares específicos; é dicir, coma calquera outra ruta metabólica, aínda que a súa complexidade sexa grande.

Por outra parte, os procesos de comunicación celular reveláronse na última década do milenio como rutas metabólicas básicas en todo tipo de células. O concepto clásico de regulación hormonal substituíuse polo de sinalización celular, xa que a diversidade de sinais, de tipos moleculares, que participan na comunicación entre células, incluso dentro dos mesmos tecidos, supera, con moito, a clásica proposta das coñecidas hormonas, afectando a todo tipo de procesos desde o metabolismo das pequenas biomoléculas ata a expresión xénica, pasando pola división e a morte das células.

Así mesmo, a capacidade de avanzar no coñecemento dos mecanismos moleculares da actividade celular levou a moderna Bioquímica a implicarse no estudio dos procesos de diferenciación celular, de especial interese en animais; tamén na caracterización da orixe molecular das enfermidades, de forma que o clásico coñecemento das doenzas ligadas a anomalías xenéticas, co uso das novas tecnoloxías, expandiuse á investigación dos acontecementos que, derivados ou non do envellecemento, conducen a patoloxías como o cancro (a máis notoria), as inmunodeficiencias ou patoloxías neurolóxicas como o Alzheimer, nas que se acadou un importante progreso.

A XEITO DE EPÍLOGO

Acabamos de ver, nunha sucinta presentación da evolución da Bioquímica no século que concluíu, cómo o esforzo de decenas de xeracións de investigadores de todo o mundo, especialmente da vella Europa e a nova América, permitiu engarzar miles de contribucións na cadea do coñecemento da Bioquímica, que desde os tateos dos primeiros anos desta centuria, alcanza, nos seus tempos postremeiros, unhas cotas que asombrarían os pioneiros das escolas alemanas.

O que semellaban retos dificilmente alcanzables a curto prazo, superáronse notablemente, non só no referido ó esclarecemento das diferentes rutas metabólicas dentro das células, senón na súa regulación e influencia polo contorno celular. Alcanzouse, ademais, un importante nivel no coñecemento da orixe molecular das enfermidades. Este aspecto e mailos progresos na manipulación da expresión xénica —ligada ó ADN recombinante e á metodoloxía del derivada, incluída a amplificación por PCR— permitiron ademais achega-los estudos bioquímicos a aplicacións sanitarias e biotecnolóxicas (producción dirixida de fármacos, de alimentos, etc.) de indubidable e concreto proveito socioeconómico.

Queda moito camiño aínda por andar, pero á vista do actual desenvolvemento da investigación bioquímica, non é aventurado predicir que en

poucos anos se teña un importante e minucioso coñecemento dos aspectos da Bioloxía dos seres vivos arriba apuntados.

ESPAÑA NA HISTORIA DA BIOQUÍMICA

Non é omisión, pola miña parte, a falta de mención de bioquímicos españois participantes no nacemento ou nos anos decisivos de crecemento da Bioquímica, coa excepción de Severo Ochoa. A investigación nesta e nas demais ramas da ciencia en España (sacando o milagre científico de Ramón y Cajal) foi absolutamente precaria nos pasados anos. O noso atraso científico, cimentado nas propias patoloxías sociais do noso país, nos séculos XVIII e XIX (no que non imos entrar), fixo pouco posible o afloramento e consolidación de escolas científicas nas que o traballo formativo sistemático e continuado cristalizara na formación de investigadores. Desgraciadamente, e como consecuencia disto, a situación prolongouse excesivamente no propio século XX.

O caso de Ochoa, coma o do propio Cajal, que el tanto admiraba, son notabilísimas excepcións. Polo que respecta a Ochoa, a súa consolidación como científico produciuse na súa longa estancia nos Estados Unidos de América, desde o ano 1939.

Evidentemente, neste artigo só se fai referencia ós nomes máis significativos, con algunha inevitable omisión, se cadra inxustificada. Pero mesmo así, na



Clase de anatomía de Ramón y Cajal. Santiago Ramón y Cajal foi o milagre científico dos primeiros anos do século XX en España. No ano 1919 concedéuselle o premio Nobel de Medicina e Fisioloxía.

ciencia bioquímica española non aparecen científicos relevantes ata entrados os anos sesenta. O que se pode denominar núcleo orixinario, do que ían derivar as principais escolas de formación de bioquímicos, iníciase arredor do grupo de científicos que en 1963 fundan a Sociedade Española de Bioquímica, cun aglutinador clave que foi Severo Ochoa.

O acto de fundación tivo lugar precisamente en Galicia e concretamente en Santiago de Compostela. Tratábase dun grupo pequeno, unha vintena na que destacaba a presenza de Alberto Sols. Este científico valen-

ciano foi o bioquímico español máis importante. Formado a finais dos anos cincuenta na magnífica escola de Carl Cori nos Estados Unidos, o seu laboratorio do Consello Superior de Investigacións Científicas de Madrid foi a escola de toda unha xeración de bioquímicos, ós que se lles abriron as portas ó mundo da caracterización das reaccións enzimáticas do metabolismo, especialmente de hidratos de carbono, ó que Sols fixo notables achegas.

Nos anos sesenta e setenta consolidáronse outros grupos, tanto no Consello de Investigacións Científicas como na Universidade. Referíndonos



No ano 1959 o bioquímico Severo Ochoa obtivo o premio Nobel de Medicina e Fisioloxía polos seus traballos sobre o código xenético.

ós máis significativos, debemos mencionar-las escolas de Margarita Salas, Eladio Viñuela, Julio Rodríguez Villanueva, Manuel Losada e David Vázquez. Estas escolas de bioquímicos españois tiveron, ademais, a peculiaridade de fomenta-la formación posterior ó doutoramento dos seus discípulos nos máis prominentes laboratorios americanos e europeos. De maneira

que nos anos oitenta o elenco de bioquímicos españois acadou un nivel extraordinario en número e categoría científica. A calidade dos seus traballos, realizados en España e fóra dela, contribuíu apreciablemente ós progresos sinalados na Bioquímica deses anos. A medida de todo isto dáa o feito de que a investigación bioquímica española, en produción científica, se atopa en sexto lugar no nivel internacional.

Por outra parte, a xeración dos oitenta foi o motor das xa importantes e diversas escolas de Bioquímica que cooperaron ó desenvolvemento científico das universidades españolas, fóra do foco central de Madrid.

Nos últimos anos deste milenio, sen embargo, a Bioquímica, e tal vez moitas outras áreas da ciencia en España, atópase nunha encrucillada desde a que se albisca un futuro sombrizo. Resaltaría uns aspectos que, ó meu entender, son determinantes: a organización científica, o financiamento e a participación da iniciativa privada.

Os centros do Consello de Investigacións Científicas (CSIC) e, mormente, as universidades, acaparan a iniciativa investigadora española, co cal nos atopamos cun deseño de organización absolutamente polarizado nos centros públicos. Se ben o CSIC conta cunha organización exclusivamente dedicada á investigación, non ocorre o mesmo coas universidades, onde a organización das actividades investigadoras está desprazada pola dependen-

cia da actividade docente, cuns claros problemas como son o desequilibrio nos graos de dedicación docente-investigadora e a falta dunha clara e específica regulamentación das actividades investigadoras. De maneira que no referente á organización científica, para a nosa desgracia, o elemento humano do problema segue coma nos anos setenta: dependencia absoluta da iniciativa persoal, sen que se teñan desenvolvido as infraestructuras organizativas de apoio e selección da calidade das investigacións. Ó tempo, as desproporcións entre dedicación docente e investigadora agrávanse coa ampliación esaxerada de universidades e titulacións nos anos noventa. A docencia acapara gran parte dos horarios, non se produciu un adecuado e proporcional aumento do persoal que tenda a asemella-la dedicación docente española coa media dos demais países desenvolvidos. A anécdota tirada das memorias de Ochoa ilustra esta situación: comentaba Ochoa que Carl Cori tivo que paraliza-las súas investigacións cando na Facultade de Medicina de Washington tivo que dar durante o ano corenta clases a estudantes de Medici-

na, cando hoxe en día o labor docente dun profesor universitario español anda polos dous centenares de horas anuais.

O financiamento, sen embargo, mellorou sensiblemente tanto no Estado como nos gobernos autonómicos. Isto encerra unha certa contradición porque as precarias condicións de traballo dos investigadores destinatarios non propician un axeitado aproveitamento dos recursos.

Por último, é lamentable a escasísima incidencia da iniciativa privada no financiamento e participación na actividade investigadora. Nin no referente a contratación nin na achega financeira, en xeral, se asoma á metade da media dos países europeos. Partidas orzamentarias dedicadas á actividade investigadora que, no remate deste milenio, escasamente alcanzan o 1 % do PIB (menos da metade da media europea), con participacións privadas que non chegan ó 10 % do investimento público, xustifican a impresión antes apuntada dunha perspectiva desalentadora. Un país sen ciencia ten moi comprometido o seu futuro benestar.

