BIOCHIMIE

BOGDAN NICOLAE MANOLESCU

BIOCHIMIE

EDITURA UNIVERSITARĂ
Bucureşti

Colecţia MEDICINĂ

Referenţi ştiinţifici: Conf. Dr. Anca Liana MARTON - Departamentul de Chimie Organică "C. Nenițescu", Facultatea de Chimie Aplicată și Știința Materialelor, Universitatea Politehnica din București
Conf. Dr. Ileana Cornelia FĂRCĂȘANU - Departamentul de Chimie Organică, Biochimie și Cataliză, Facultatea de Chimie, Universitatea din București

Redactor: Gheorghe Iovan
Tehnoredactor: Ameluţa Vişan
Coperta: Monica Balaban
Foto coperta 1: Ilustrație de David S. Goodsell (doi: 10.2210/rcsb_pdb/goodsell-gallery-008). Imaginea redă o secțiune printr-un eritrocit. Se poate observa membrana plasmatică (în violet) la partea superioară, precum și numeroase proteine integrale de membrană. Unele dintre acestea interacționează cu rețeaua de spectrină situată imediat sub membrană, pe fața citosolică a acesteia. În partea inferioară a imaginii se observă numeroase molecule de hemoglobină (în roșu).

Editură recunoscută de Consiliul Naţional al Cercetării Ştiinţifice (C.N.C.S.) şi inclusă de Consiliul Naţional de Atestare a Titlurilor, Diplomelor şi Certificatelor Universitare (C.N.A.T.D.C.U.) în categoria editurilor de prestigiu recunoscut.

Descrierea CIP a Bibliotecii Naţionale a României
MANOLESCU, BOGDAN NICOLAE
Biochimie / Bogdan Nicolae Manolescu. - Bucureşti : Editura Universitară, 2021-
2 vol.
ISBN 978-606-28-1278-2
Vol. 1. - 2021. - Conţine bibliografie. - Index. - ISBN 978-606-28-1279-9

577.1

DOI: (Digital Object Identifier): 10.5682/9786062812799

© Toate drepturile asupra acestei lucrări sunt rezervate, nicio parte din această lucrare nu poate fi copiată fără acordul Editurii Universitare

Copyright © 2021
Editura Universitară
Editor: Vasile Muscalu
B-dul. N. Bălcescu nr. 27-33, Sector 1, Bucureşti
Tel.: 021.315.32.47
www.editurauniversitara.ro
e-mail: redactia@editurauniversitara.ro

Distribuţie: tel.: 021.315.32.47/ 0745 200 718/ 0745 200 357
comenzi@editurauniversitara.ro
www.editurauniversitara.ro

Prefață

Științele biomedicale sunt printre cele mai dinamice domenii. Pandemia generată de răspândirea celui mai recent coronavirus a fost un bun prilej pentru a ilustra încă o dată acest aspect. În 26 decembrie 2019 la unul dintre spitalele din Wuhan (China) era internat primul pacient infectat cu ceea ce avea să fie cunoscut ulterior drept virusul SARS-CoV-2. În 3 februarie 2020 era publicat articolul „*A new coronavirus associated with human respiratory disease in China*" (*Nature*, 579, 265, 2020) în care era descrisă secvența genomului acestui virus (29.903 nucleotide). În 11 decembrie 2020 FDA (Food and Drug Administration) autoriza în regim de urgență folosirea primului vaccin (Pfizer-BioNTech) în vederea imunizării față de virusul SARS-CoV-2 a persoanelor cu vârsta de peste 16 ani. În fine, în 10 mai 2021, FDA extindea autorizarea pentru utilizarea acestui vaccin și în cazul copiilor cu vârsta cuprinsă între 12 și 15 ani. În ciuda reticenței cauzată, în general, de o informare precară, cercetările legate de utilizarea ARN-ului mesager în vederea obținerii unor vaccinuri nu reprezintă o direcție de cercetare tocmai nouă, ci datează din anii '90. Începuturile studiilor în această zonă sunt legate de numele cercetătorilor americani Katalin Karikó, Drew Weissman și Robert Langer. Este foarte probabil ca în decembrie 2021 să regăsim printre laureații Premiului Nobel pentru Medicină și Fiziologie unele dintre aceste nume. Această succesiune de evenimente nu ar fi fost posibilă fără biochimie, biotehnologie, biologie moleculară și genetică.

Uneori, viteza cu care apar noi descoperiri în biochimie este atât de mare încât nu prea mai putem ține pasul. În timp ce mă ocupam de tehnoredactarea acestei lucrări am avut surpriza să aflu că un grup de cercetători de la Universitatea Georg August (Göttingen, Germania) a descris un nou tip de legătură covalentă ce se formează între catenele laterale ale aminoacizilor cisteină și lizină (*Nature*, 593, 460, 2021). Evident, mi-a fost imposibil să mai adaug această informație în cadrul capitolului 3, deoarece acesta fusese deja editat. Cu siguranță o voi face la o eventuală ediție viitoare a acestei lucrări.

Alteori, noile descoperiri pot avea un impact profund asupra unui întreg domeniu. În prezent se știe că doar proteinele și lipidele pot fi modificate prin atașarea de glicani. Prin urmare, vestea publicării în revista *Cell*, în luna mai a acestui an, a unui articol care descrie primele molecule de ARN modificate prin glicozilare a provocat o surpriză enormă în comunitatea științifică internațională. Dacă această descoperire va fi validată de studii ulterioare, se va impune o analiză a modului în care procesul de glicozilare este prezentat în diferitele manuale de biochimie și biologie celulară.

Redactarea acestei lucrări a venit oarecum firesc ca urmare a experienței acumulate în 15 ani de predare a diferitelor aspecte de biochimie atât studenților de la ciclul de licență, cât și celor de la master. Cursurile și lucrările practice m-au pus în situația de a regândi modul de abordare a unor concepte. Soluțiile au venit din cele mai neașteptate locuri. Spre exemplu, filmul islandez *Despre oameni și oi* (Hrútar, 2015) mi-a oferit ideea unei alternative atractive pentru predarea unor aspecte legate de structura tridimensională a proteinelor.

Am redactat acest manual în decursul unui interval de aproape cinci ani și în toată această perioadă m-am gândit adesea la oportunitatea publicării sale. La ora actuală avem acces la o serie de manuale excelente de biochimie cu o largă circulație internațională. Prin urmare, la ce bun încă un manual de biochimie? Cred că mediul universitar românesc ar avea nevoie de o astfel de lucrare. Elaborarea acestui manual a fost destul de anevoioasă. În afară de aspectele fundamentale am încercat să includ și o serie de informații recente, ceea ce a presupus consultarea unui număr semnificativ de articole. Sigur, glicoliza, decarboxilarea oxidativă a piruvatului și ciclul acizilor tricarboxilici sunt aceleași, dar în absența elementului de noutate această carte ar fi fost doar un alt manual de biochimie. Am încercat să fac o selecție judicioasă a informației și să o prezint într-o formă cât mai clară și accesibilă. În plus, pentru a facilita înțelegerea am ales să susțin textul cu numeroase tabele și imagini,

unele originale, altele reproduse din baze de date și articole. Doar timpul îmi va arăta dacă demersul meu va fi sau nu unul de succes. De asemenea, opiniile și sugestiile colegilor biochimiști și chimiști vor ajuta la îmbunătățirea unei eventuale ediții ulterioare.

Terminologia a fost o problemă cu care m-am confruntat pe parcursul elaborării acestui manual. Din punctul meu de vedere, traducerea unor termeni consacrați din limba engleză în limba română nu este cea mai potrivită abordare. Uneori, pot apărea situații cel puțin bizare, dacă nu chiar hilare. Spre exemplu, unele manuale românești traduc termenul receptori *scavenger* cu cel de receptori *gunoier*. Eu personal dezavuez total o astfel de traducere și o descurajez. Prin urmare, la redactarea acestui manual am optat, în mare măsură, pentru folosirea terminologiei în limba engleză.

Biochimia, ca orice altă știință, nu este doar o sumă de concepte, teorii și date științifice. Toate acestea au fost descoperite și dezvoltate de oameni. Documentarea pentru redactarea acestui manual mi-a dat posibilitatea de a-mi face o idee despre poveștile de viață ale unor cercetători mai cunoscuți sau mai puțin cunoscuți. Unele dintre aceste povești sunt de-a dreptul tragice, precum cea a lui Jakub Parnas, în timp ce altele ne vorbesc despre determinarea omului de a depăși orice obstacol ivit în calea cunoașterii. Acesta este și motivul pentru care am ales ca de-a lungul acestei lucrări să indic numele unui număr cât mai mare de cercetători.

Din considerente tehnice, materialul redactat va fi publicat sub forma a două volume. Primul dintre acestea descrie aspecte de bază și face o prezentare a principalelor clase de biomolecule (aminoacizi, peptide, proteine, glucide, lipide și baze azotate și derivații acestora). În plus, capitolul destinat lipidelor beneficiază și de un consistent subcapitol despre membranele biologice. De asemenea, există și două capitole suplimentare despre transportul prin membrane și respectiv semnalizarea intercelulară. Cel de-al doilea volum cuprinde prezentarea căilor metabolice, precum și a modalității prin care celulele își obțin energia (metabolismul energetic). În fine, cum biochimia nu poate fi separată de patologie, am inserat de-a lungul acestei lucrări o serie de corelații clinice pe care le-am considerat relevante în anumite contexte. Cu toate că acest manual este axat pe biochimia omului, el cuprinde și aspecte de biochimie microbiană și chiar vegetală.

Din punctul meu de vedere, această lucrare are o adresabilitate foarte largă. Poate fi utilizată de studenții facultăților de Biologie, Chimie, Medicină și Inginerie Chimică. Sigur, în funcție de profil, ar trebui selectate judicios doar anumite concepte.

În încheiere aș dori să le mulțumesc colegelor mele, doamnele Conf. Dr. Anca Marton (Departamentul de Chimie Organică „C. Nenițescu”, Facultate de Chimie Aplicată și Știința Materialelor, Universitatea POLITEHNICA din București) și Conf. Dr. Ileana Fărcășanu (Departamentul de Chimie Organică, Biochimie și Cataliză, Facultatea de Chimie, Universitatea din București) pentru parcurgerea critică a materialului redactat de mine, precum și pentru discuțiile constructive care m-au ajutat să îmbunătățesc numeroase aspecte. De asemenea, aș dori să îi mulțumesc și doamnei Ameluța Vișan (Editura Universitară) care a avut o contribuție fundamentală în tehnoredactarea acestei lucrări și în editarea tuturor imaginilor preluate din diverse surse.

Bogdan Nicolae Manolescu
bogdan.manolescu@upb.ro

1 | Aspecte introductive

Frederick Sanger (1918-2013), unul dintre cei mai remarcabili și inventivi oameni de știință ai secolului al XX-lea, a fost recompensat de două ori cu Premiul Nobel pentru Chimie (1958, 1980). În afară de el, încă trei persoane au mai avut acest palmares: John Bardeen, Marie Curie și Linus Pauling[1]. Parcurgând biografia lui Frederick Sanger disponibilă pe *site*-ul Fundației Nobel[2], cititorului îi poate fi atrasă atenția de următorul paragraf:

> "*So I decided to study science and, on arrival at Cambridge, became extremely excited and interested in biochemistry when I first heard about it, principally through Ernest Baldwin and also other members of the relatively young and enthusiastic Biochemistry Department that had been founded by F.G. Hopkins. It seemed to me that here was a way to really understand living matter and to develop a more scientific basis to many medical problems.*"

Acest citat ne oferă atât o definiție, cât și o idee privind aplicațiile biochimiei. Astfel, biochimia este una dintre științele ce permite cunoașterea „*materiei vii*". Mai exact, se ocupă cu studiul structurii și funcției biomoleculelor, asigurând înțelegerea modului în care acestea interacționează unele cu altele. Acest lucru nu ar fi posibil fără contribuția chimiei, a biofizicii, a geneticii etc. Descrierea transformărilor în care sunt implicate biomoleculele a condus la deslușirea mecanismelor prin care organismele își obțin și utilizează energia. În fine, biochimia, alături de genetică și biologie moleculară, a asigurat identificarea mecanismelor ce stau la baza stocării informației genetice, a transmiterii acesteia de la o generație la alta și a expresiei sale.

Biochimia[3] este o știință relativ nouă, apărută la începutul secolului al XIX-lea, însă studii legate de organismele vii și transformările care au loc *in vivo* au fost realizate cu mult timp înainte. Dezvoltarea și progresul acestui domeniu au fost strâns legate de evoluția tehnicii. Uneori, limitările tehnice au fost depășite de către cercetători prin realizarea unor experimente simple, dar ingenioase. În anumite situații, acumularea cunoștințelor care să permită înțelegerea unui anumit proces biochimic a fost lentă. Spre exemplu, glicoliza, secvența de zece reacții prin care glucoza este transformată în două molecule de acid piruvic cu formarea concomitentă de ATP, a fost descrisă în detaliu după aproximativ 60-70 de ani de studii.

Este dificil de realizat o cronologie a descoperirilor în acest domeniu datorită numărului foarte mare de evenimente și de cercetători de care ar trebui să se țină cont. Totuși, o selecție judicioasă a unor momente reprezentative face posibilă crearea unei imagini privind modul în care această știință s-a dezvoltat.

1.1 | Scurt istoric

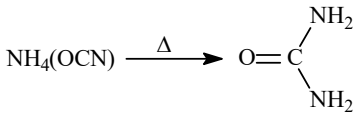
La începutul secolului al XIX-lea, *teoria vitalistă* era susținută de unii dintre marii cercetători ai vremii, precum Jöns Jakob Berzelius (1779-1848) și Louis Pasteur (1822-1895). Aceștia avansau idea

[1] John Bardeen a fost un fizician american care a primit Premiul Nobel pentru Fizică în 1956 și 1972. Marie Skłodowska Curie (1867-1934), chimist-fizician francez de origine polonă, a primit Premiul Nobel pentru Fizică (1903) și Premiul Nobel pentru Chimie (1911), acesta din urmă datorită descoperirii Poloniului și Radiumului. Totodată a fost și prima femeie care a primit această distincție. În fine, Linus Pauling (1901-1994), figură marcantă a științei din Statele Unite ale Americii, a primit Premiul Nobel pentru Chimie în 1954, iar opt ani mai târziu a fost recompensat cu Premiul Nobel pentru Pace (1962).

[2] http://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1980/sanger/biographical/.

[3] Originea cuvântului *biochimie* nu este foarte clară. Se pare că acest termen, în varianta germană *biochemie*, a fost folosit pentru prima dată în anul 1877 de către fiziologul și chimistul german Felix Hoppe-Seyler (1825-1895) în prefața primului număr al revistei *Zeitschrift für Physiologische Chemie* pe care acesta a editat-o până în 1895.

existenței unei *forțe vitale* care ar fi animat toate organismele vii [Hubert, 2005]. Treptat au început să apară dovezi experimentale care să infirme această teorie. Astfel, într-o zi a anului 1828, chimistul german Friedrich Wöhler (1800-1882), fost student al lui Berzelius, a încălzit cianat de amoniu și a obținut o substanță solidă, cristalină, cu punct de topire diferit de cel al compusului de la care a pornit. El preparase uree, substanță despre care se știa la vremea respectivă că ar fi produsă doar de către organismele animale.



Wöhler îi scrie lui Berzelius pentru a-i povesti despre descoperirea sa: „*trebuie să îți spun că pot prepara urea fără ajutorul rinichiului unui animal, fie om sau câine*" [Hubert, 2005].

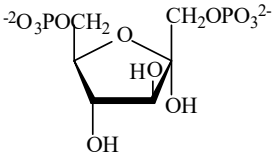
În plus, în urma analizelor, Wöhler constată că cele două substanțe au aceeași masă moleculară, dar proprietăți diferite. Ulterior, Berzelius sugerează faptul că două substanțe distincte pot fi alcătuite din aceiași atomi, dar legați în mod diferit. Experimentul acesta a rămas în istoria științei datorită faptului că marchează începutul declinului teoriei vitaliste.

În anul 1833, chimistul francez Anselme Payen (1795-1871) descoperă prima moleculă capabilă să catalizeze o reacție și o numește *diastază* (în prezent, amilază). Termenul *enzimă* este introdus abia în anul 1877 de către fiziologul german Wilhelm Friedrich Kühne (1837-1900). De la momentul introducerii acestui termen în limbajul științific până în momentul stabilirii naturii chimice a enzimelor au mai trecut încă 50 de ani.

Louis Pasteur, celebrul chimist francez, a arătat, spre sfârșitul anilor '50 ai secolului al XIX-lea, că fermentația alcoolică, transformarea glucozei în etanol, este un proces chimic care se datorează celulelor de drojdii. Se poate spune că studiile sale au deschis calea cercetărilor ce au permis stabilirea modului în care este degradată glucoza.

Un alt moment care a contribuit la declinul ireversibil al teoriei vitaliste a fost reprezentat de publicarea, în anul 1897, a unui articol despre fermentația alcoolică [Büchner, 1897]. Autorul, chimistul german Eduard Büchner (1860-1917), arăta faptul că acest proces poate avea loc și în absența celulelor intacte de drojdii. Pentru cercetările sale a fost recompensat cu Premiul Nobel pentru Chimie (1907).

De-a lungul timpului, mulți cercetători au fost interesați de modul în care celulele degradează glucoza. După descoperirile făcute de către Pasteur și Büchner, un alt moment notabil în acest sens a fost reprezentat de experimentele realizate între 1905 și 1911 de către biochimiștii britanici Sir Arthur Harden (1865-1940) și William John Young (1878-1942). Aceștia au constatat că degradarea glucozei (*glicoliza*) depinde de prezența unei surse de fosfat anorganic. De asemenea, au arătat că celulele de drojdii conțin o fracție termosensibilă (*zimază*) și una termorezistentă (*cozimază*) și că fermentația alcoolică nu poate avea loc decât în prezența ambelor fracții [Kresge, 2005]. Ulterior s-a stabilit că este vorba despre enzimele glicolitice și respectiv cofactorii acestora. În plus, cei doi au identificat primul intermediar glicolitic, fructozo-1,6-bisfosfatul (*ester Harden-Young*).



fructozo-1,6-bisfosfat
(*ester Harden-Young*)

Biochimistul german Otto Meyerhof (1884-1951) a fost un alt cercetător cu contribuții importante în ceea ce privește glicoliza. Astfel, în anii '20 și '30 ai secolului trecut, acesta a reușit să descrie aproximativ o treime dintre reacțiile glicolizei [Kresge, 2005]. Meyerhof a primit Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină în anul 1922 în semn de recunoaștere a importanței studiilor sale privind metabolismul. În plus, în prima jumătate a anilor '30, Kurt Lohmann (1898-1978), cercetător care lucra în laboratorul lui Meyerhof, a descoperit că degradarea glucozei este strâns legată de sinteza ATP [Kresge, 2005].

Către sfârșitul anilor ’20, chimistul suedez Hans von Euler Chelpin (1873-1964) a efectuat studii asupra fracției termorezistente descrisă anterior de către Harden și Young. Ulterior, la mijlocul anilor ’30, a izolat din această fracție o substanță despre care a arătat că este alcătuită din adenină, o pentoză, un derivat de piridină (nicotinamidă) și fosfat [Schlenk, 1936]. Von Euler a denumit acest compus *cozimază I* (Fig. 1.1).

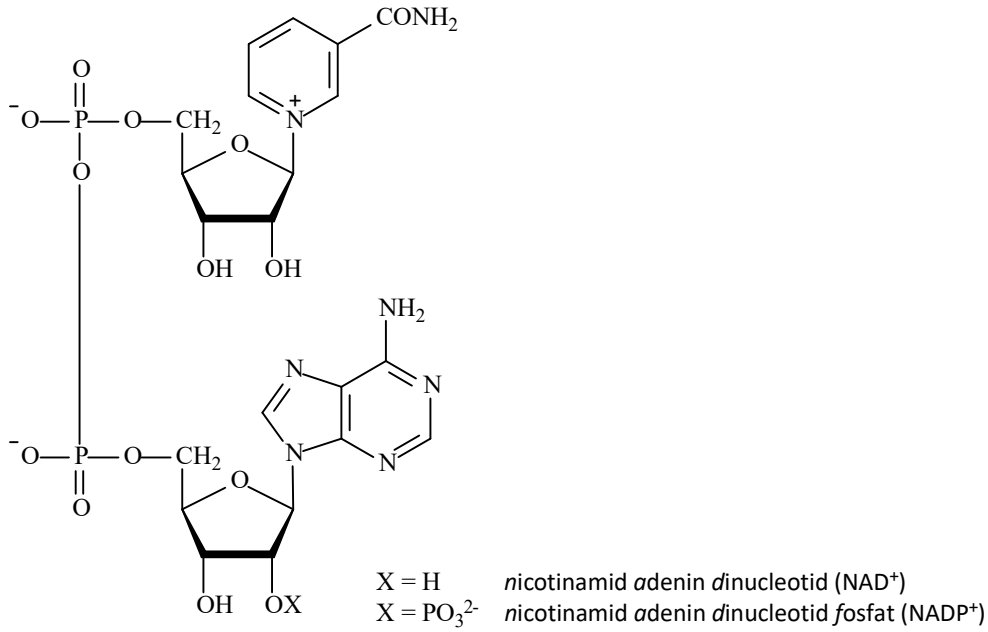


Figura 1.1 | ***Structura chimică a cozimazelor I și II***. Acestea au fost redenumite ulterior NAD^+ și respectiv $NADP^+$.

În aceeași perioadă, medicul german Otto Warburg (1883-1970) a izolat din eritrocite un compus cu o structură similară cozimazei I, dar având o grupare fosfat în plus. Această substanță a fost denumită *cozimază II* [Warburg, 1936]. Tot Warburg a mai arătat faptul că oxidarea gliceraldehid-3-fosfatului la 1,3-bisfosfoglicerat cu ajutorul cozimazei I este cuplată cu sinteza ATP din ADP. Astfel, a devenit evident faptul că una dintre funcțiile glicolizei este aceea de a produce ATP. În plus, s-a ajuns la concluzia că reacțiile redox depind de prezența cozimazei I.

În urma unui raport elaborat de către Comisia de Enzime din cadrul Uniunii Internaționale de Biochimie (1961), cozimazele I și II au fost redenumite nicotinamid adenin dinucleotid (NAD^+) și nicotinamid adenin dinucleotid fosfat ($NADP^+$). Pentru studiile lor privind glicoliza, Harden și Chelpin au primit Premiul Nobel pentru Chimie (1929). Cercetările privind respirația celulară i-au adus lui Otto Warburg Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină (1931).

O primă încercare de a formula succesiunea de reacții a glicolizei i-a aparținut lui Gustav Embden (1874-1933) [Embden, 1933]. În plus, acesta a avansat și ipoteza, care s-a dovedit ulterior a fi corectă, că fructozo-1,6-bisfosfatul este clivat cu formarea a două trioze (gliceraldehid-3-fosfat și dihidroxiaceton monofosfat).

După moartea lui Embden, eforturile cumulate ale lui Otto Meyerhof, Otto Warburg, Jakub Parnas (1884-1949), Carl Neuberg (1877-1956), ale soților Carl și Gerti Cori și Hans von Euler Chelpin (1873-1964) au permis elucidarea detaliilor glicolizei (Fig. 1.2).

Istoricul acizilor nucleici începe cu experimentele medicului elvețian Friedrich Miescher (1844-1895). Acesta era preocupat de natura chimică a biomoleculelor și, încercând să izoleze și să caracterizeze proteine din limfocite umane, obține din nucleele acestor celule un material bogat în fosfor și azot, dar lipsit de sulf pe care îl denumește *nucleină* [Dahm, 2005]. Ulterior, după ce și-a îmbunătățit protocolul de lucru, a reușit să separe acest material și din alte tipuri de celule. Era anul 1869, iar Miescher și-a publicat rezultatele abia în anul 1871. Între anii 1885 și 1901, biochimistul german Albrecht Kossel (1853-1927) a izolat din nucleină cinci substanțe, le-a determinat structurile și le-a denumit adenină, guanină, timină, citozină și uracil [Jones, 1953]. Pentru studiile sale privind compoziția acizilor nucleici, Kossel a fost recompensat cu Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină (1910). Se consideră că termenul *acid nucleic* a fost introdus de către histopatologul german Richard Altmann (1852-1900) către sfârșitul anilor ’80 ai secolului al XIX-lea [Blackburn, 2006].

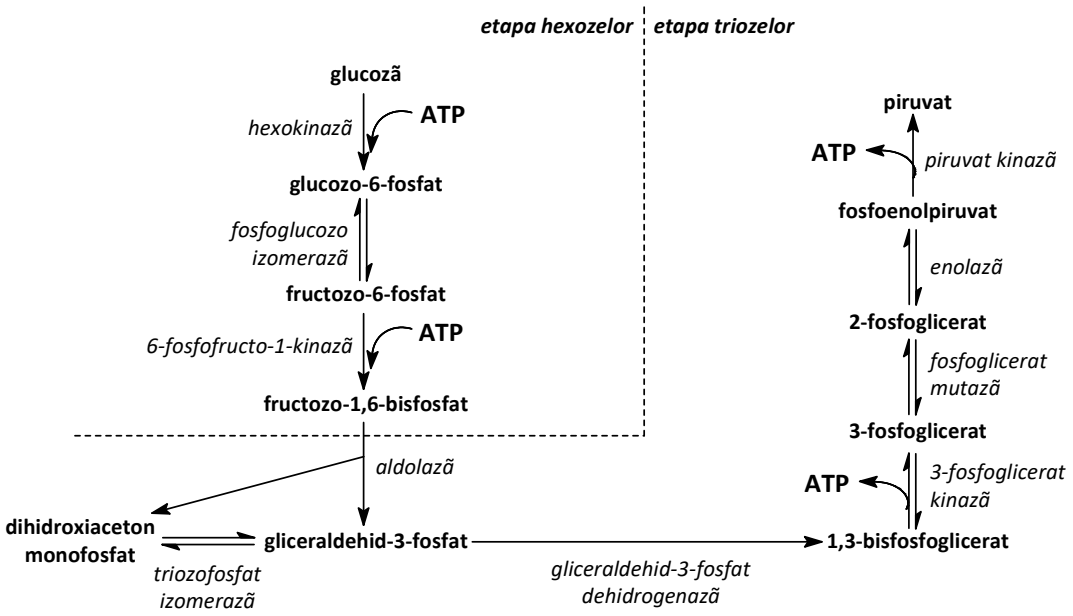


Figura 1.2 | ***Schema generală a glicolizei***. Sunt prezentați doar intermediarii cu omiterea altor reactanți. Se observă faptul că în etapa hexozelor se consumă ATP, în timp ce în etapa triozelor se formează ATP.

Chimistul german Emil Fischer (1852-1919) a fost o personalitate remarcabilă a științei europene în a doua jumătate a secolului al XIX-lea și prima parte a secolului al XX-lea [Fechete, 2016]. Studiile sale au vizat numeroase clase de compuși organici (baze azotate purinice, zaharuri și derivați, aminoacizi și proteine). Astfel, în anul 1897 a publicat structurile chimice ale cafeinei, teobrominei, xantinei, guaninei și acidului uric. De asemenea, a sintetizat și glucozidele unora dintre aceste baze. A obținut o serie de pentoze și hexoze (glucoză, fructoză, manoză). A studiat și fermentația alcoolică și a propus *modelul lacăt-cheie* pentru a explica interacția dintre o enzimă și substratul său [Fechete, 2016]. În fine, în ultima parte a carierei sale a realizat o serie de studii sistematice asupra proteinelor și aminoacizilor reușind să descopere valina, prolina și hidroxiprolina. Pentru contribuțiile sale la chimia purinelor și a zaharurilor a fost recompensat cu Premiul Nobel pentru Chimie (1902).

Începutul secolului al XX-lea este marcat de studiile biochimistului german Franz Knoop (1875-1946) și ale chimistului englez Henry Drysdale Dakin (1880-1952) care au permis înțelegerea principiului ce stă la baza degradării acizilor grași la mamifere. Tehnica marcării biomoleculelor cu izotopi radioactivi nu era disponibilă la momentul respectiv, primele studii de acest gen fiind realizate abia către sfârșitul anilor ’30. Prin urmare, Knoop și Dakin au utilizat tehnica marcării chimice, accesibilă în acea perioadă. Cei doi au folosit acizi grași cu număr par și impar de atomi de carbon pe care au atașat un nucleu benzenic la nivelul capătului ω (Fig. 1.3) [Knoop, 1904]. Acești acizi au fost administrați unor câini de la care, ulterior, s-a colectat urina timp de trei zile.

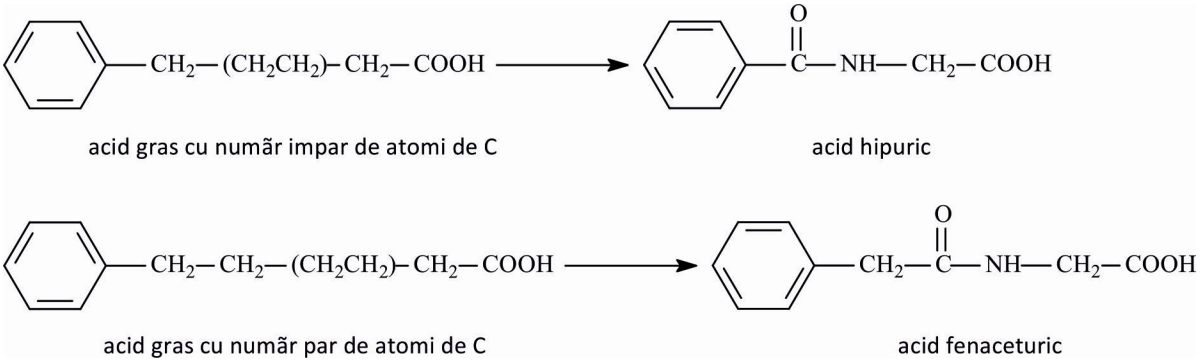


Figura 1.3 | ***Experimentul lui Franz Knoop***. Acizii grași cu număr par și impar de atomi de carbon, având capătul ω marcat cu un nucleu benzenic, au fost administrați subcutanat unor câini. Compușii rezultați în urma degradării au fost identificați în urină sub forma produșilor de conjugare cu glicina. [realizat după figura 20-9 din Donald J. Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt, Principles of Biochemistry, ediția a III-a, John Wiley & Sons, Inc., 2008]

În urină au fost identificați acizii hipuric și fenaceturic care provin prin degradarea acizilor grași cu număr impar și respectiv număr par de atomi de carbon. De fapt, aceștia sunt produșii de condensare a glicinei cu acizii benzoic și respectiv fenilacetic. Knoop a publicat în anul 1904 rezultatele studiului său și a sugerat că degradarea acizilor grași are loc prin eliminarea secvențială a unor unități cu câte doi atomi de carbon. Dakin a refăcut experimentele și a publicat rezultatele sale în 1908 [Dakin, 1908]. Elucidarea succesiunii de reacții și a enzimelor implicate a fost posibilă abia la mijlocul secolului după descoperirea coenzimei A.

Anul 1926 reprezintă un moment important în istoria biochimiei datorită articolului publicat de către chimistul american James Batcheller Sumner (1887-1955) prin care erau anunțate obținerea primei enzime în formă cristalină, precum și natura proteică a acesteia [Sumner, 1926]. Era vorba despre urează (Fig. 1.4). Rezultatele lui Sumner au fost primite cu reticență de către comunitatea academică, deoarece în acea perioadă se considera imposibilă cristalizarea enzimelor și, pe de altă parte, nu era foarte clară natura chimică a acestora. Ulterior, în anul 1929, biochimistul american John Howard Northrop (1891-1987) a anunțat obținerea în stare cristalină a enzimelor digestive pepsină, tripsină și chimotripsină, confirmând în acest fel rezultatele lui Sumner [Northrop, 1929]. Importanța studiilor realizate de către cei doi a fost recunoscută prin acordarea Premiului Nobel pentru Chimie (1946), alături de biochimistul american Wendell Meredith Stanley (1904-1971).

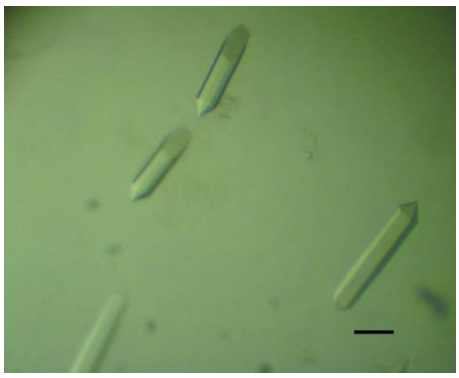


Figura 1.4 | ***Cristale de urează izolate din fasole (Canavalia ensiformis)***. Segmentul negru are o lungime de 0,1 mm. [preluat din Balasubramanian A., Ponnuraj K. Purification, crystallization and preliminary X-ray analysis of urease from jack bean (*Canavalia ensiformis*), *Acta Crystallogr. F Struct. Biol. Crystallogr. Commun.*, 65, 949, 2009; reprodus cu permisiunea Uniunii Internaționale de Cristalografie]

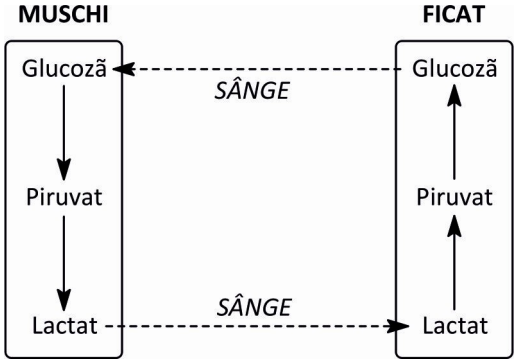


Figura 1.5 | ***Ciclul Cori***. În timpul contracției musculare intense, mușchiul comută pe glicoliză anaerobă, produsul final fiind lactatul. Acesta este exportat în sânge de unde este preluat de către ficat și folosit pentru sinteza de glucoză (*gluconeogeneză*). Glucoza este eliberată în circulație și folosită de către mușchi.

Unul dintre puținele cupluri din lumea științei, Carl Ferdinand Cori (1896-1984) și Gerty Cori (1896-1957) a avut contribuții importante la înțelegerea metabolismului glucidelor. În anul 1929 au publicat rezultatele unor studii care arătau legături metabolice între mușchiul scheletic și ficat (*ciclul Cori*) (Fig. 1.5) [Cori, 1929].

Acest ciclul permite mușchiului scheletic să exporte în sânge lactatul, forma ionizată a acidului lactic la pH fiziologic. Apoi, lactatul este extras de către ficat și folosit pentru sinteza de glucoză. În final, aceasta este eliberată înapoi în circulație de unde este preluată și de către mușchi. Ciclul Cori previne acumularea lactatului și scăderea pH-ului intramuscular în timpul efortului fizic.

În anii care au urmat, soții Cori au studiat și metabolismul glicogenului, arătând faptul că glucozo-1-fosfatul (*ester Cori*) este produsul catabolismului acestei polizaharide [Cori, 1937]. De asemenea, au identificat și studiat enzima ce catalizează formarea acestui ester și au denumit-o fosforilază. Au descoperit și faptul că această enzimă este reglată allosteric de către AMP.

Contribuția soților Cori la înțelegerea metabolismului glicogenului a fost recompensată cu Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină în anul 1947.

În urma epidemiei de gripă din anul 1918, oamenii de știință au început să fie preocupați de găsirea unor vaccinuri pentru a preveni bolile infecțioase. În acest context, bacteriologul britanic Frederick Griffith (1879-1941) a realizat studii folosind celule de *Streptococcus pneumoniae* (Fig. 1.6) [Griffith, 1928]. El a lucrat cu două tulpini care se deosebesc prin structură și virulență. Astfel, celulele de tip *S* (smooth) produc o capsulă polizaharidică care le conferă rezistență față de sistemul

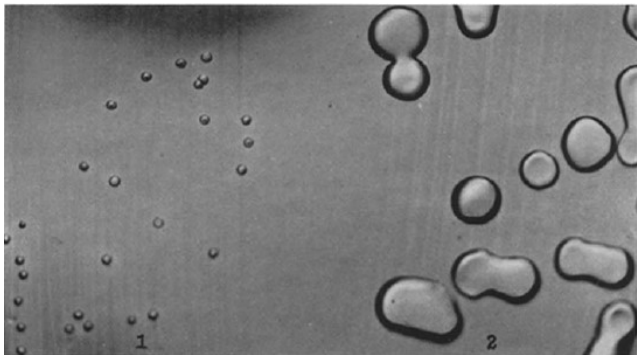


Figura 1.6 | ***Colonii de pneumococi***. Se observă colonii formate din celule de tip *R*, lipsite de virulență (1), și colonii formate din celule de tip *S*, virulente (2). [© Avery O.T., MacLeod C.M., McCarty, publicată inițial în *J. Exp. Med.*, 79, 153, 1944; reprodus cu permisiunea Rockefeller University Press]

imunitar al gazdei infectate. Pe de altă parte, celulele de tip *R* (rough) nu produc această capsulă, fiind recunoscute și distruse de către sistemul imunitar. Prin urmare, celulele de tip *S* sunt virulente și determină moartea gazdei, iar celulele de tip *R* sunt lipsite de virulență.

Griffith a făcut o serie de experimente folosind animale de laborator (Fig. 1.7). Astfel, într-un experiment a folosit celule de tip *S* distruse prin încălzire pe care le-a injectat subcutanat la șoareci și a constatat, așa cum era de așteptat, că animalele supraviețuiesc. Pentru un al doilea experiment, a amestecat celule de tip *S* distruse în prealabil prin încălzire cu celule de tip *R* viabile. A injectat amestecul la șoareci și a constatat că aceștia dezvoltă o formă fatală de pneumonie. În plus, Griffith a putut izola din sângele animalelor moarte ambele tipuri de celule bacteriene. În final, a realizat și un al treilea experiment în care a folosit celule de tip *R* pe care le-a injectat la șoareci și a constatat că animalele supraviețuiesc. Astfel, Griffith a arătat că celulele de tip *R* au fost *transformate* în celule de tip *S*, natura agentului transformant fiind însă necunoscută [Griffith, 1928].

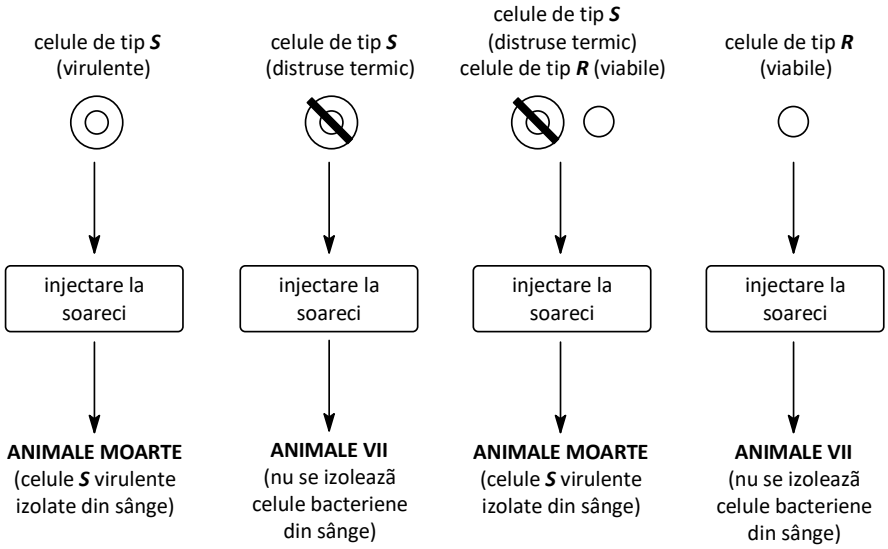
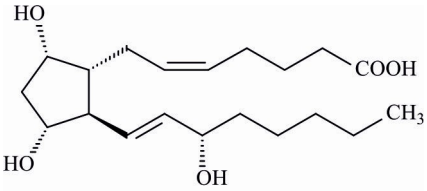


Figura 1.7 | ***Schema experimentului realizat de Frederick Griffith***. Acest experiment a arătat faptul că o substanță chimică neidentificată provenind de la celulele de tip *S* inactivate termic poate determina transformarea celulelor de tip *R* (nevirulente) în celule de tip *S* (virulente).

Prima jumătate a anilor ’30 marchează începuturile domeniului de studiu al compușilor biologic activi cu 20 de atomi de carbon (*eicosanoide*). În anul 1934, fiziologul și farmacologul suedez Ulf Svante von Euler (1905-1983), cel de-al doilea fiu al lui Hans von Euler Chelpin, a publicat un articol în care a descris o substanță izolată din lichidul seminal, capabilă să inducă contracția musculaturii uterine. Substanța a fost denumită *prosta*glandină deoarece, la vremea respectivă, se credea că era produsă la nivelul prostatei. Ulterior, s-a constatat că este secretată de către veziculele seminale.

> "*With regard to the nature of the active substance, it is dialysable and soluble in water, alcohol, acetone, ether and chloroform. The substance is unstable at high temperatures, more so in alkali than in acid. Cataphoresis experiments have shown that the active substance has acid properties. In order to make reference more convenient, and since it is clear that this substance is different from other autopharmacologic substances it has been preliminarily called „prostaglandin*" [Baskett, 2019]

În ciuda faptului că nu reflectă realitatea, această denumire s-a păstrat până în ziua de azi. În anul 1970, Ulf Svante von Euler a primit Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină, însă nu pentru descoperirea prostaglandinei, ci pentru studiile sale legate de neurotransmisia adrenergică.



Prostaglandina F_2 (PGF_2)

William Thomas Astbury (1898-1961) a fost un fizician britanic, deschizător de drumuri în domeniul utilizării difracției de raze X pentru studiul biomoleculelor. În anul 1928, Astbury a fost numit lector în fizica textilelor la Universitatea din Leeds unde a rămas până la finalul carierei sale. În această calitate a început să realizeze studii de difracție de raze X pe fibrele de lână și, în scurt timp, a demonstrat faptul că elasticitatea acestor fibre se datorează modificării conformației lanțurilor polipeptidice ale keratinei. Ulterior, și-a îndreptat atenția și către alte proteine precum miozina din mușchi, fibrinogenul și colagenul. Sub îndrumarea lui Astbury, doctoranda sa, Florence Bell, a realizat studii sistematice asupra altor biomolecule cu structură fibrilară, precum acizii nucleici. Astfel, aceasta a obținut o serie de imagini de difracție de raze X ale acidului deoxiribonucleic (ADN) pe baza cărora cei doi au propus un model în care bazele azotate erau așezate unele peste altele precum monezile dintr-un fișic (Fig. 1.8) [Astbury, 1938].

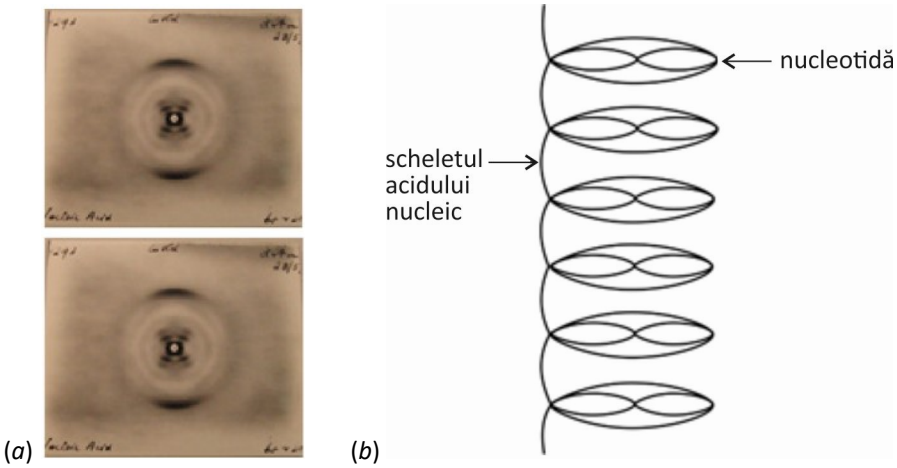
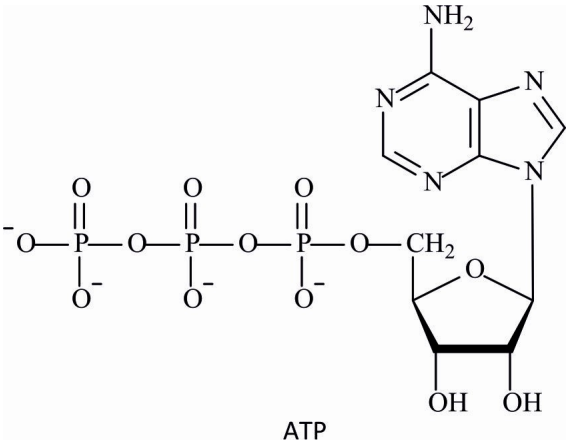


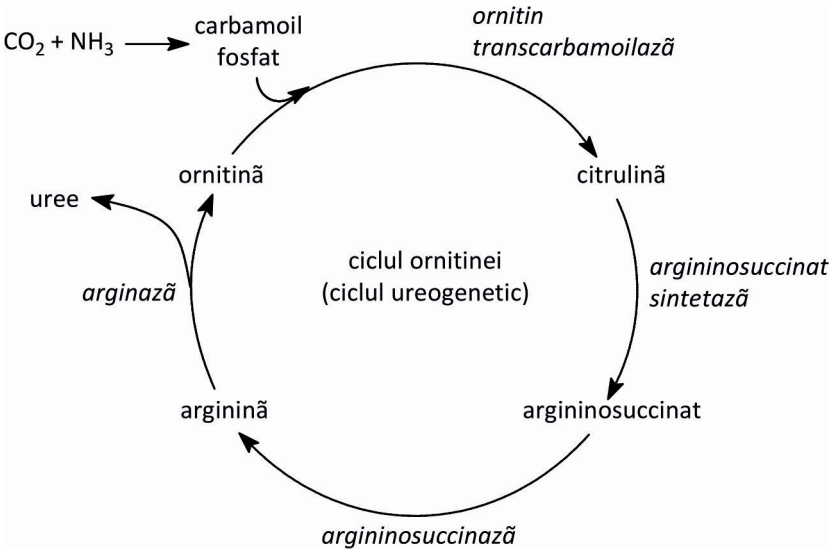
Figura 1.8 | ***Rezultate ale cercetărilor lui William Astbury***. (*a*) Imagini de difracție de raze X ale ADN-ului obținute în laboratorul lui Astbury. (*b*) Modelul structural al ADN-ului propus de către Astbury și doctoranda sa, Florence Bell. [preluat din Hall K., *Stud. Hist. Philos. Biol. Sci.*, 42, 119, 2011; reprodus cu permisiunea Elsevier]



ATP

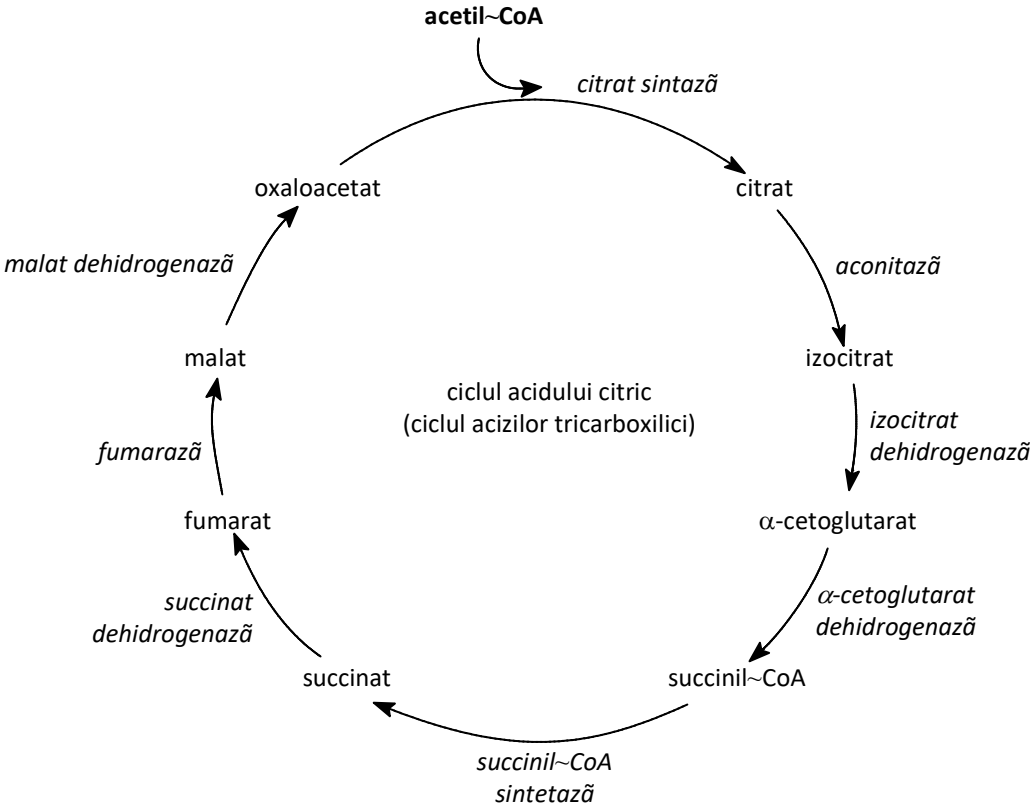
La sfârșitul anilor ’20, biochimiștii americani Yellapragada SubbaRow (1895-1948) și Cyrus Hartwell Fiske (1890-1978) au descoperit fosfocreatina și ATP-ul ca rezultat al unor studii privind metabolismul muscular [Fiske, 1929]. În plus, cei doi au arătat faptul că fosfocreatina este hidrolizată în timpul contracției musculare și resintetizată în perioadele de repaus. Obținerea acestor rezultate a fost posibilă numai datorită faptului că cei doi dezvoltaseră în prealabil o metodă sensibilă pentru determinarea concentrației de fosfat din probele biologice. În același an, Karl Lohmann, în laboratorul berlinez al lui Otto Meyerhof, identifică ATP-ul [Lohmann, 1929].

Hans Adolf Krebs (1900-1981) a fost unul dintre marii biochimiști ai secolului trecut [Holmes, 1999]. În anul 1923, absolvă cursurile de medicină ale Universității din Berlin. Un moment important în devenirea sa profesională l-a reprezentat angajarea ca asistent în laboratorul lui Otto Warburg. Timp de patru ani, între 1926 și 1930, Krebs s-a familiarizat și și-a însușit diferite tehnici care erau utilizate la vremea respectivă în cercetarea biochimică. Warburg era recunoscut pentru faptul



că nu le permitea colaboratorilor să rămână un interval de timp prea mare în laboratorul său. Hans Krebs nu a fost o excepție și, în 1930, a plecat la Hamburg și apoi la Freiburg, începând să își pună în practică propriile proiecte de cercetare. Pentru început și-a îndreptat atenția asupra ureii, despre care se știa că este sintetizată în ficat, fără să se cunoască succesiunea de reacții. După o serie de studii, Hans Krebs și Kurt Henseleit, colaboratorul său, au arătat că ornitina acționează catalitic în sinteza hepatică a ureii și că citrulina, arginina și ornitina participă într-o succesiune de reacții care formează un ciclul prin intermediul căruia o moleculă de CO_2 și două molecule de amoniac sunt transformate într-o moleculă de uree [Krebs, 1932]. Astfel, a fost descrisă prima cale metabolică ciclică, denumită *ciclul ornitinei* (*ciclul ureogenetic*).

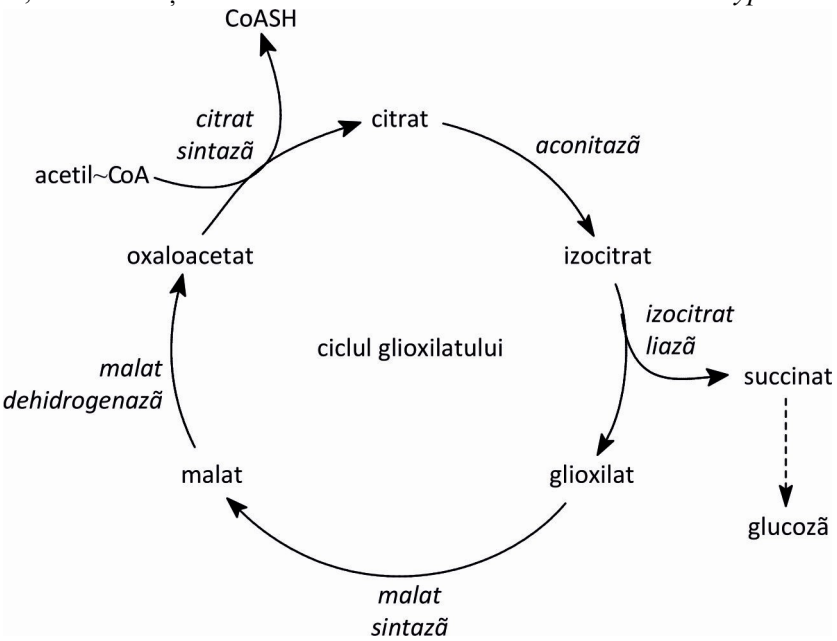
Ca urmare a ascensiunii nazismului în Germania, Krebs a emigrat în 1933 în Marea Britanie unde a rămas până la sfârșitul vieții. Într-o primă etapă a lucrat la Universitatea din Cambridge și ulterior la cea din Sheffield. Pe baza propriilor rezultate experimentale, precum și a celor obținute de alți cercetători ai vremii, Hans Krebs a descris a doua cale metabolică ciclică, denumită *ciclul acizilor tricarboxilici* [Krebs, 1937].



Krebs a încercat să publice rezultatele sale în revista *Nature*. Însă editorii au respins manuscrisul pe motiv că aveau un număr prea mare de manuscrise deja depuse pentru evaluare. Prin

urmare, articolul este trimis la revista *Enzymologia* care îl și acceptă spre publicare. Krebs a continuat această direcție de cercetare și a publicat numeroase articole pe această temă.

Munca și rezultatele științifice ale lui Hans Krebs au fost recompensate prin promovarea, în anul 1954, în poziția de profesor de biochimie la Universitatea Oxford. În anii care au urmat, Krebs și Hans Kornberg, colaboratorul său, au descris și caracterizat două enzime care realizează un *bypass* al ciclului acizilor tricarboxilici [Kornberg, 1957]. *Ciclul glioxilatului* permite plantelor, bacteriilor și fungilor să transforme acetil~CoA în oxaloacetat care poate fi utilizat în gluconeogeneză.



În anul 1953, Hans Krebs și Fritz Lipmann au împărțit Premiul Nobel pentru Fiziologie și Medicină pentru „*descoperirea ciclului acidului citric*" și respectiv pentru „*descoperirea coenzimei A și a importanței sale în metabolismul intermediar*".

Structura reală a acizilor nucleici a rămas necunoscută până către mijlocul anilor '40. Studiile realizate la vremea respectivă conduceau la rezultate care arătau că cele patru tipuri de baze azotate se găsesc în cantități egale în acizii nucleici, cel mai probabil o consecință a lipsei de sensibilitate a metodelor analitice ale vremii. Aceste rezultate au dus la apariția în anii '30 a unei teorii care sugera că acizii nucleici ar fi fost niște tetranucleotide, nucleotidele individuale fiind legate între ele prin legături fosfodiesterice (Fig. 1.9) [Hargittai, 2009]. Unul dintre cei care au inițiat și susținut această teorie a fost biochimistul american de origine rusă, Phoebus Levene (1869-1940).

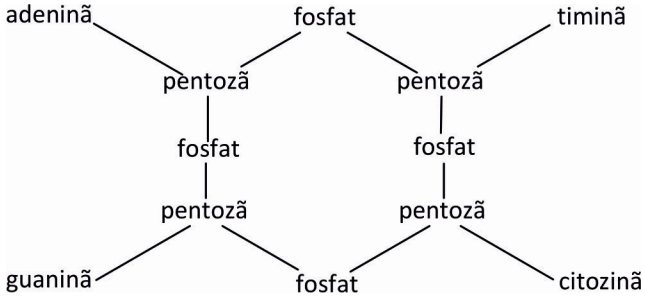


Figura 1.9 | *Reprezentare schematică ce ilustrează teoria structurii tetranucleotidice a acizilor nucleici*. [realizat după figura 1 din Wrinch D.M., On the molecular structure of chromosome, *Protoplasma*, 25, 550, 1936]

Având în vedere structura presupusă a acizilor nucleici, este evident că aceste biomolecule erau privite la vremea respectivă ca fiind lipsite de funcții biologice. În plus, nu se punea problema ca acestea să poată fi considerate ca purtătoare ale informației genetice.

În ciuda susținerii unei astfel de teorii care, în ziua de azi poate părea hilară chiar și unui elev de liceu, Phoebus Levene, chimist american de origine rusă, a avut o serie de contribuții reale în biochimie prin studiile sale privind diferitele clase de biomolecule. A identificat riboza și 2-deoxiriboza din structura acizilor ribonucleic (ARN) și respectiv deoxiribonucleic (ADN), a introdus termenul *nucleotidă* și a arătat că în acizii nucleici nucleotidele sunt legate între ele prin legături fosfodiesterice. Totuși, către sfârșitul vieții, Levene avea să constate prin studii de ultracentrifugare că acizii nucleici au mase de 200-1.000 kDa[4] și, prin urmare, sunt macromolecule. Aceste rezultate erau în dezacord cu structura pe care chiar el o propusese [Blackburn, 2006].

Oswald Avery (1877-1955), Colin MacLeod (1909-1972) și Maclyn McCarty (1911-2005) au realizat în anul 1944 un experiment devenit clasic în biologie (Fig. 1.10) [Avery, 1944]. Aceștia au folosit celule de *S. pneumoniae* de tip *S*, precum cele utilizate de către Frederick Griffith. Bacteriile au fost omorâte prin încălzire și s-a obținut un extract care a fost împărțit în trei probe. Prima probă a fost

[4] Dalton-ul este o unitate de exprimare a masei moleculare, reprezentând 1/12 din masa atomului ^{12}C. 1 kDa = 1000 Da.

tratată cu proteaze pentru a distruge proteinele. A doua și a treia probă au fost tratate cu RNaze și respectiv DNaze pentru a hidroliza ARN-ul și respectiv ADN-ul. Apoi au amestecat probele rezultate cu celule de tip *R* viabile și au injectat cele trei probe finale unor animale de laborator.

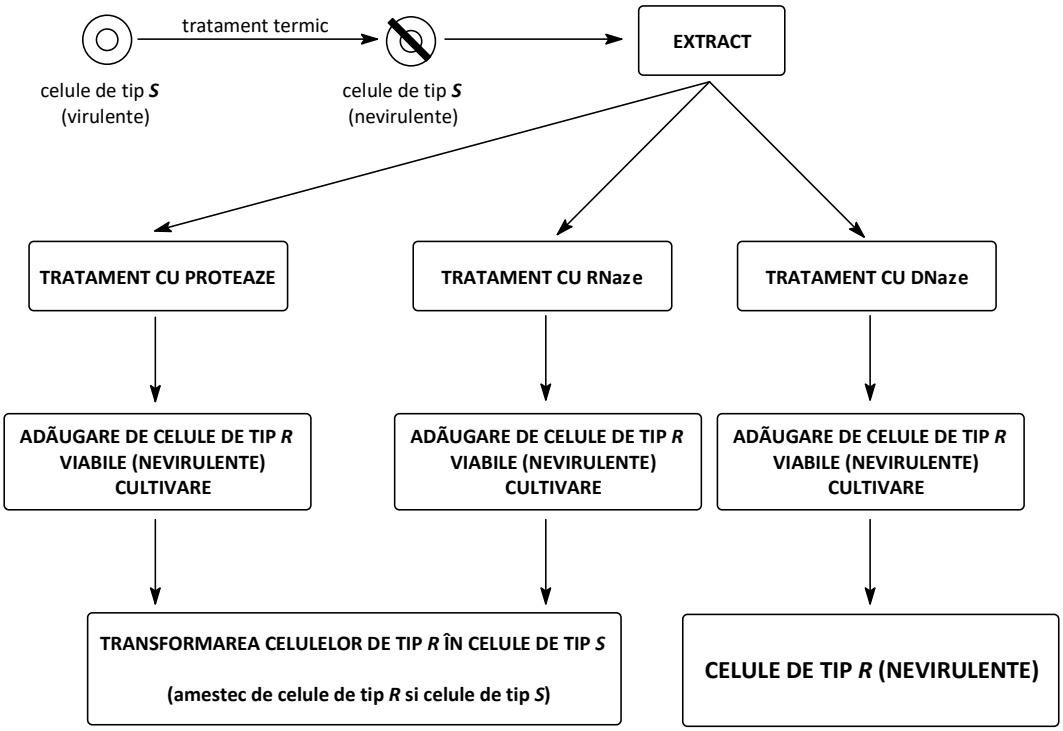


Figura 1.10 | ***Schema experimentului realizat de către Avery, MacLeod și McCarty***. Acest experiment a arătat în mod indirect faptul că ADN-ul este molecula responsabilă de transformarea celulelor de tip *R* (nevirulente) în celule de tip *S* (virulente).

În final, cei trei au observat că numai în cazul probei tratate în prealabil cu DNaze nu a survenit moartea animalelor de laborator. Acest experiment a arătat că agentul transformant din studiul lui Griffith era reprezentat de ADN. În plus, este furnizată prima dovadă experimentală a faptului că ADN-ul și nu proteinele poartă informația genetică. Cu toate acestea, rezultatele acestui studiu au fost primite cu anumite rezerve de către comunitatea academică.

Un alt cercetător cu contribuții importante în domeniul acizilor nucleici a fost chimistul scoțian John Masson Gulland (1898-1947). În anul 1945, fără să se distanțeze de teoria tetranucleotidică privind structura acizilor nucleici, Gulland avansează ipoteză că acizii nucleici ar fi tetranucleotide „statistice" [Gulland, 1945]. Altfel spus, el considera că acizii nucleici ar conține cantități egale din cele patru baze azotate, legate însă în succesiuni variabile. Astfel, pentru prima dată este formulată posibilitatea existenței unui număr foarte mare de acizi nucleici. La o distanță de numai doi ani, în 1947, Gulland publică rezultatele studiilor de titrare electrometrică a ADN-ului extras fără ajutorul acizilor sau bazelor și arată faptul că există un număr mare de legături de hidrogen între grupările amino ale adeninei și citozinei și grupările enolice ale guaninei și timinei [Gulland, 1947; Creeth, 1947]. În plus, se conturează ideea că aceste legături de hidrogen se formează între baze situate pe catene diferite.

Fritz Albert Lipmann (1899-1986) a fost un biochimist american de orgine germană. După ce și-a obținut doctoratul lucrând în laboratorul lui Otto Meyerhof, a plecat la Copenhaga pentru a lucra în laboratorul lui Albert Fischer. Aici începe să studieze oxidarea acidului piruvic cu ajutorul unui preparat enzimatic din celule de *Lactobacillus delbrueckii*. În timpul experimentelor constată că degradarea piruvatului nu poate avea loc decât în prezența fosfatului, procesul fiind însoțit de formarea de ATP [Lipmann, 1939]. Astfel, avansează ipoteza existenței unui intermediar metabolic de tip acetil~fosfat care ar face legătura între oxidarea piruvatului și sinteza ATP [Lipmann, 1940].

În anul 1941, Lipmann a publicat un capitol într-un volum al seriei *Advanced Enzymology* care avea să devină o referință în domeniul biochimiei [Lipmann, 1941]. Cu această ocazie a propus

organizarea compușilor fosforilați existenți *in vivo* în compuși cu și respectiv fără caracter macroergic. În plus, a introdus simbolul „~” pentru a indica o *legătură macroergică*. Acest concept este specific biochimiei și nu trebuie confundat cu energia de legătură (energia necesară pentru a rupe o legătură covalentă). Din punct de vedere constitutiv, o legătură reprezentată prin acest semn nu are nimic special față de aceeași legătură existentă într-un compus organic, însă prin hidroliza unei astfel de legături se eliberează o cantitate apreciabilă de energie ($\Delta G_{\text{hidroliză}} < 0$).

Tabel 1.1 | Variația energiei libere la hidroliza unor compuși fosforilați

Compus chimic	$\Delta G^{o\prime}$ (kJ/mol)	Tip de compus fosforilat
Fosfoenolpiruvat	-61,9	compuși fosforilați cu caracter macroergic (transferă P_a pe ADP)
1,3-bisfosfoglicerat	-49,4	
Acetilfosfat	-43,1	
Fosfocreatină	-43,1	
ATP (cu formare de ADP și P_a)	-30,5	
Glucozo-1-fosfat	-20,9	compuși fosforilați fără caracter macroergic (nu transferă P_a pe ADP)
Pirofosfat	-19,2	
Fructozo-6-fosfat	-13,8	

valori preluate din Donald J. Voet, Judith G. Voet, Charlotte W. Pratt, Principles of Biochemistry, ediția a III-a, John Wiley & Sons, Inc., 2008

Valorile prezentate în tabelul 1.1 sunt cunoscute și sub denumirea de *potențiale de transfer ale grupării orto-fosfat* (vezi *Compuși cu caracter macroergic*). Modul în care sunt organizate în tabel aceste valori permite înțelegerea fluxului grupărilor *orto*-fosfat *in vivo* (Fig. 1.11). Astfel, prin degradarea diferitelor substrate se eliberează energie care este captată sub forma compușilor fosforilați cu caracter macroergic. La rândul lor, aceștia transferă gruparea *orto*-fosfat pe molecula ADP-ului cu formarea ATP-ului. În final, o grupare *orto*-fosfat poate fi transferată de pe ATP pe diferite substrate, cu formarea unor compuși fosforilați fără caracter macroergic.

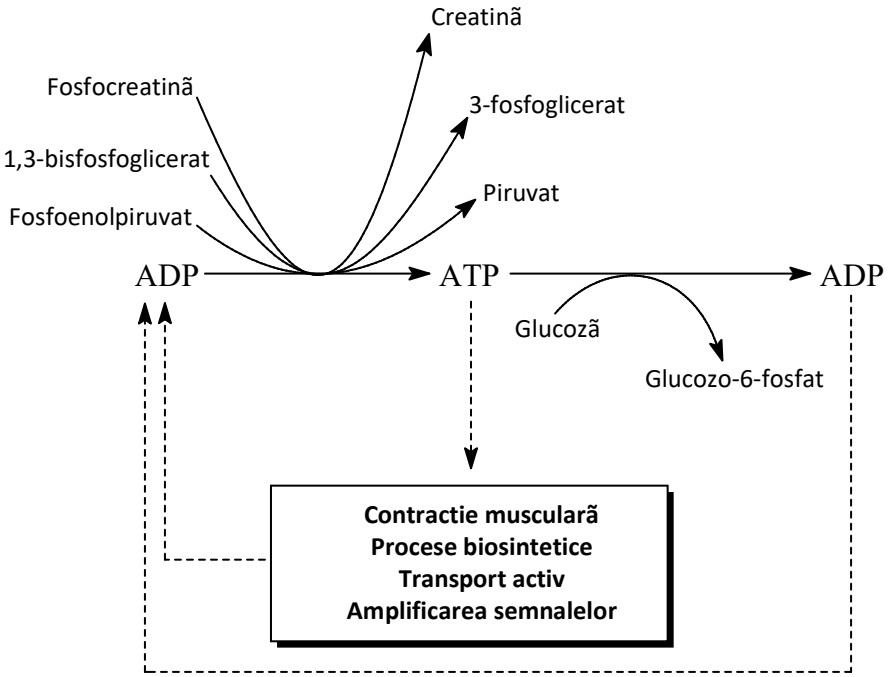


Figura 1.11 | ***Fluxul grupărilor orto-fosfat în metabolism***. Compușii fosforilați cu caracter macroergic transferă gruparea *orto*-fosfat pe ADP cu formarea ATP-ului. La rândul său, ATP-ul transferă o grupare *orto*-fosfat pe diverse substrate care devin compuși fosforilați fără caracter macroergic.

Tot în acest capitol Lipmann a sugerat și faptul că prin degradarea nutrienților se eliberează energie care este captată sub forma compușilor fosforilați cu caracter macroergic. Ulterior, din aceștia

se sintetizează ATP. În plus, a avansat și ideea că procesele biosintetice necesită energie sub forma ATP-ului.

În anul 1941, datorită contextului politic din Europa, Lipmann a emigrat în America, la Boston, unde și-a continuat activitatea științifică, devenind interesat de reacțiile de acetilare. A studiat acetilarea sulfanilamidei cu ajutorul unui preparat enzimatic obținut din ficatul de porumbel. În urma experimentelor a constatat cu surprindere că acetil~fosfatul nu este un agent de acetilare eficient și, prin urmare, își dă seama că acest compus nu este forma activă metabolic a grupării acetil. Își continuă cercetările în această direcție și, în anul 1946, anunță izolarea și purificarea coenzimei responsabile de activarea acestei grupări și pe care o denumește *coenzima A* (CoA, litera A face referire la capacitatea de a activa acetatul) (Fig. 1.12) [Lipmann, 1946]. Un an mai târziu anunță faptul că această coenzimă derivă de la acidul pantotenic [Lipmann, 1947].

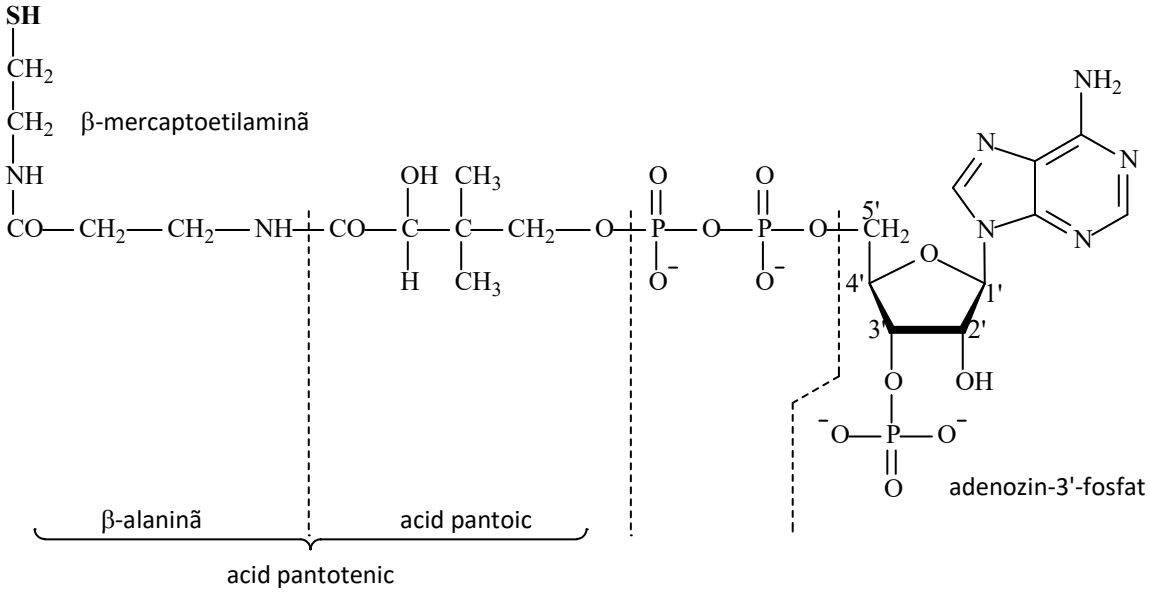


Figura 1.12 | ***Structura chimică a coenzimei A***.

Ulterior, în decursul anilor, Lipmann a arătat că această coenzimă este implicată în sinteza citratului și a acetoacetatului, precum și în activarea tuturor acizilor grași în cadrul metabolismului.

În ciuda faptului că obținuse o serie de informații despre compoziția și structura chimică a coenzimei A, Lipmann nu a putut indica modul de legare a grupării acetil.

În Germania anilor ’40, biochimistul Feodor Lynen (1911-1979) era preocupat de modul în care are loc sinteza acidului citric pornind de la acizii acetic și oxaloacetic. În studiile inițiale acesta folosise acetil~fosfat, crezând că acidul acetic este activat prin fosforilare, fără a obține însă acidul citric. Din cauza eșecului, Lynen abandonează aceste studii pentru câțiva ani. Abia după ce află de rezultatele lui Lipmann se reapucă de studiile sale folosind de data aceasta acetil~CoA. Întâmplător, în urma unei discuții avute într-o seară cu cumnatul său, Hermann Theodor Felix Wieland (1913-1995), chimist care în perioada respectivă era implicat în studii privind acidul pantotenic, lui Lynen îi vine ideea că poate gruparea acetil este legată la atomul de sulf al coenzimei A [Lynen, 1951]. Acesta a fost momentul în care au intrat în scenă tioesterii. Studiile sale ulterioare au arătat faptul că transferul grupării acetil este similar cu cel al grupării *orto*-fosfat motiv pentru care acetil~CoA a fost considerată un compus cu potențial înalt de transfer al acestei grupări.

Cariera academică a lui Feodor Lynen s-a dezvoltat puternic în urma stabilirii structurii acetil~CoA. Astfel, în anul 1953, la vârsta de 42 de ani, acesta devine primul profesor universitar de biochimie din Germania. După stabilirea structurii acetil~CoA, Lynen și-a îndreptat atenția către metabolismul acizilor grași. El arată că degradarea acestora se face prin eliminarea secvențială a unei unități cu doi atomi de carbon sub formă de acetil~CoA, confirmând rezultatele obținute la începutul secolului de către Knoop și Dakin (Fig. 1.13) [Lynen, 1964]. În plus, identifică enzimele implicate în acest proces și arată că ultima reacție este o tioliză. De asemenea, Lynen a mai descris și prima etapă a biosintezei acizilor grași din acetil~CoA care constă în activarea acestui compus la malonil~CoA. Nu în ultimul rând, Lynen a studiat și reacțiile de carboxilare dependente de biotină.

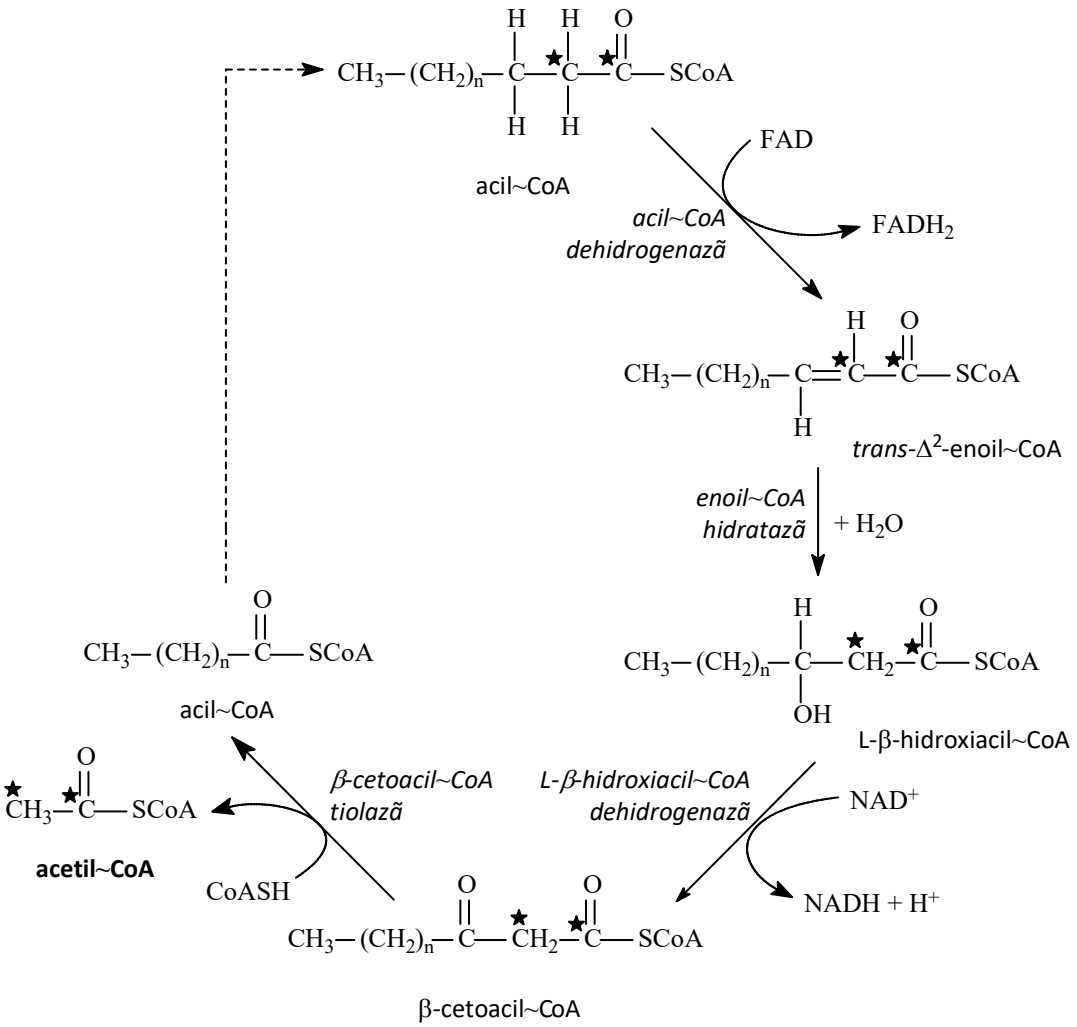


Figura 1.13 | ***Degradarea acizilor grași (spirala Lynen)***. Succesiunea de patru reacții permite eliberarea unei unități cu doi atomi de carbon sub formă de acetil~CoA. Această secvență se repetă până când toți atomii de carbon sunt eliminați în acest fel. (* indică atomii de carbon din acidul gras care sunt eliminați ca unitate acetil).

Spre sfârșitul anilor ’30 o nouă tehnică devine disponibilă, permițând investigarea cu mare precizie a metabolismului. Astfel, marcarea cu izotopi[5] a unor substanțe face posibilă urmărirea modului în care acestea sunt transformate în organism. Unul dintre primii cercetători care a folosit izotopii a fost biochimistul polonez Jakub Parnas (1884-1949). Acesta a utilizat izotopul ^{32}P și a confirmat că degradarea glicogenului începe cu o reacție de fosforoliză la care participă fosfat anorganic (Fig. 1.14) [Barańska, 2007].

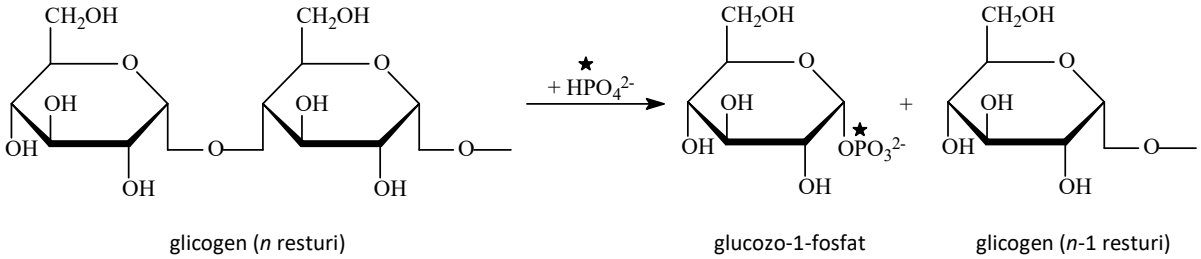


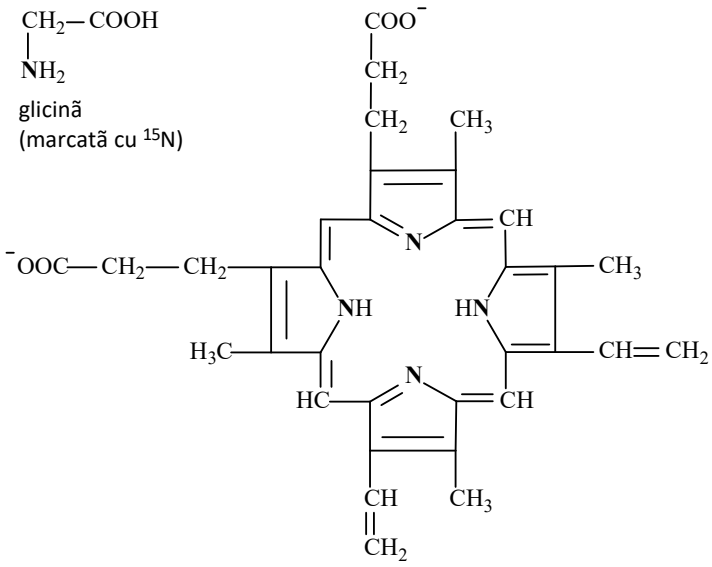
Figura 1.14 | ***Fosforoliza glicogenului***. Izotopul ^{32}P este marcat cu *.

[5] Izotopii unui element chimic au același număr de protoni, dar un număr diferit de neutroni în nucleu. Unii sunt stabili (^{2}H, ^{13}C, ^{15}N, ^{18}O), în timp ce alții sunt instabili (^{14}C, ^{32}P, ^{35}S, ^{125}I, ^{131}I), descompunându-se cu eliminarea de radiație specifică.

Între anii 1920 și 1939, Parnas a desfășurat o prolifică activitate științifică și didactică la Liov, în Ucraina, în cadrul Facultății de Medicină. A realizat studii privind glicoliza și modul în care ATP-ul este sintetizat prin transferul grupării *orto*-fosfat de pe intermederi glicolitici fosforilați cu caracter macroergic pe ADP [Barańska, 2007]. De asemenea, a mai fost preocupat și de metabolismul muscular al purinelor, precum și de formarea amoniacului în mușchi în timpul contracției.

Ca urmare a atacării URSS de către trupele germane și datorită publicării unui articol antigerman sub semnătura lui Parnas, ceea ce s-a dovedit o înscenare, acesta se vede nevoit să plece la Moscova. Aici se va bucura doar pentru o scurtă perioadă de renumele său deoarece cade rapid în dizgrația autorităților ruse sub acuzația de spionaj pentru țările occidentale. Este arestat în noaptea de 28 spre 29 ianuarie 1947 și trimis în cumplita închisoare moscovită Lubyanka unde moare în urma unui infarct. În semn de recunoaștere a contribuției pe care a avut-o la înțelegerea glicolizei, această cale metabolică mai este numită calea Embden-Meyerhof-Parnas.

La mijlocul deceniul patru al secolului trecut, David Shemin (1911-1991) și David Rittenberg (1906-1970), folosind izotopul ^{15}N, au arătat că atomii de azot din structura protoporfirinei IX, componentă a grupării prostetice hem din hemoproteine, provin din glicină și nu de la alți compuși azotați (amoniac, acid glutamic, prolină, leucină) [Kresge, 2006]. Shemin chiar a ingerat glicină marcată cu acest izotop pentru a studia distribuția ulterioară a acestuia în sângele său.



El a continuat studiile în această direcție și, de-a lungul mai multor ani, a arătat, folosind izotopul ^{14}C, că opt atomi de carbon ai nucleului porfirinic provin din glicină (C_α), iar restul din acetat [Kresge, 2006]. De asemenea, Shemin a demonstrat că acidul δ-aminolevulinic este un intermediar în sinteza acestui nucleu și a avansat ipoteza că un alt intermediar ar putea fi succinil~CoA, compus care la vremea respectivă nu era cunoscut.

Konrad Emil Bloch (1912-2000) a fost un biochimist american de origine germană. Acesta alege să devină chimist organician după ce audiază un curs al lui Hans Fischer în München [Kresge, 2005]. La începutul anilor ’30, ascensiunea nazismului determină plecarea lui Bloch în Elveția, la Davos, iar de aici către America unde, după ce își susține doctoratul, îl întâlnește pe David Rittenberg. Începând cu anul 1941, cei doi inițiază studii sistematice cu o durată de peste zece ani în urma cărora au demonstrat (i) că atomii de carbon din molecula colesterolului provin din cei doi atomi de carbon ai unității acetat din acetil~CoA și (ii) că acizii grași sunt sintetizați tot din acetil~CoA [Kresge, 2005]. Bloch a arătat că biosinteza colesterolului presupune parcurgerea a trei etape principale: (i) sinteza izoprenului activ biologic din acetil~CoA, (ii) transformarea izoprenului activ biologic în squalen și (iii) conversia squalenului la colesterol (Fig. 1.15) [Bloch, 1964]. De asemenea, a mai investigat și transformarea colesterolului în acizi biliari și hormoni steroizi.