

2. Ej. No. 24



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Antecedentes Históricos de la
Bioquímica**

TRABAJO MONOGRAFICO

MANUEL REYES GARCIA

QUÍMICO

1984



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE

INTRODUCCION	1
LAS PRIMERAS IDEAS ACERCA DE LOS FENOMENOS VITALES	3
PROTO-BIOQUIMICA POSTGALENICA	6
PROTO-BIOQUIMICA FLOGISTICA	14
FOTOSINTESIS	20
BIOCATALISIS Y TEORIA ENZIMATICA DEL METABOLISMO	26
EL MICROSCOPIO Y EL DESCUBRIMIENTO DE LA CELULA	33
ESTUDIOS DE LAS SUBESTRUCTURAS CELULARES	39
LA BIOQUIMICA MODERNA	54
BIOENERGETICA	59
RECONOCIMIENTO DE LAS PROTEINAS COMO MACROMOLECULAS DEFINIDAS	66
EL ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO	75
EL DESCUBRIMIENTO DE LAS VITAMINAS	89
EL DESCUBRIMIENTO DE LAS HORMONAS	94
CRONOLOGIA	102
BIBLIOGRAFIA	117

INTRODUCCION

Cuando nos iniciamos en el estudio de la ciencia , y en este caso particular , de la bioquímica , parece que estuviera constituida por un cumulo de fenómenos aislados , o muy lógicos o muy difíciles de comprender y aceptar .

Esto sucede cuando no se tiene una visión histórica , cuando se desconocen los antecedentes y variaciones , de las hipótesis y conceptos , así como las motivaciones de los descubrimientos bioquímicos que se manejan hoy día .

Pudiera parecer poco práctico , el conocimiento del aspecto histórico de la ciencia , pero no es sólo un entretenimiento , sino que muchas veces es necesario para llegar a tener una comprensión exacta de los fenómenos que se realizan en la naturaleza .

De esta manera no sólo es útil , sino necesario , conocer los antecedentes históricos que dieron lugar a una ciencia que ha avanzado enormemente , y que por sí misma ha dado lugar a otras ramas de la Biología , como son respectivamente la Bioquímica y la Biología Molecular .

Ninguna actividad refleja mejor el desarrollo del hombre , que la ciencia misma . Es sumamente interesante ver cómo los diferentes conceptos bioquímicos no surgieron de pronto , como mutaciones , sino que el hombre ante su necesidad imperiosa de saber , fué elaborando las primeras explicaciones imaginativas sobre los fenómenos vitales , y cómo fueron poco a poco modificandose a medida que los avances tecnológicos iban produciendo nuevos descubrimientos y que a su vez traerían otros más .

Haciéndose necesario agruparlos en temas específicos , dando origen a nuevas ramas de la ciencia , las que al delimitar su campo de acción y definir su objetivos , se transformaron en ciencias independientes .

Este trabajo se realizó con el fin de dar una introducción , un bosquejo de fondo de lo que ha sido la bioquímica , y hacer comprensible su desarrollo , especialmente par los alumnos de la Facultad de Química , y sean capaces de considerar críticamente las hipótesis e ideas de hoy , y de estimarlas en su verdadero valor .

Por lo que más que presentar una monografía de los fenómenos en sí

se exponen en forma somera las ideas , motivaciones , y los logros de los investigadores . Pudiendose destacar la importancia e interrelación de las grandes etapas de la evolución de la humanidad , con el desarrollo de los descubrimientos de la Alquimia , la Química , la Fisiología , y la Bioquímica .

En esta parte sólo se presentan las primeras ideas sobre los fenómenos vitales , sobre la célula , y las biomoléculas , no en un orden estrictamente cronológico de todo el conjunto , sino más bien , separandolos por temas afines y recojiendo datos sobre el desarrollo de los conocimientos científicos de cada tema .

Se puede sentir la falta de algunos temas clásicos de la bioquímica (metabolismo , regulación , biosíntesis) , pero la mayoría de ellos son tratados en otro trabajo (*) , y que otros , como sucede con los lípidos y los carbohidratos , la historia de su descubrimiento no es tan espectacular como , por ejemplo , la de los ácidos nucleicos , de los cuales se hace un estudio más detallado , tanto por su importancia , como por que su historia en conjunto , es un no delo de investigación maravilloso .

También no aparecen algunos hechos o datos , como son todas las técnicas analíticas de la bioquímica moderna , lo que constituiría todo un trabajo aparte , o las funciones de las biomoléculas , lo que correspondería a la biología molecular .

Finalmente , este trabajo se pensó como una mínima contribución para dar al estudiante ese aspecto humano que rodea a los grandes investigadores y sus descubrimientos , mostrando su espíritu humano entregado a la labor de interpretar y comprender la naturaleza .

(*) Villena Lozano Carlos Ramón
Apuntes para una historia de la Bioquímica
El metabolismo intermediario
México D.F. (1981)

LAS PRIMERAS IDEAS ACERCA DE LOS FENOMENOS VITALES

La antigua proto-bioquímica griega

La ciencia griega primitiva se esforzó por llegar a decifrar la naturaleza interna del universo, y explicar de una forma generalizada de qué están hechas todas las cosas. Lo que llevó a los pensadores griegos a delimitarse en dos corrientes principales: la materialista, que giraba en torno a la materia y su naturaleza, desarrollándose en Jonia, y la otra centrada en la actividad y su significado, desarrollada en Italia por los pitagóricos.

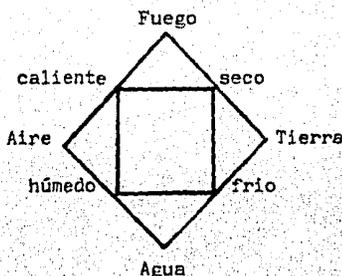
Los materialistas consideraban un universo viviente en su totalidad, cuya materia esencial y de la que se componían todas las cosas se transformaba para dar origen a otras formas de materia. Así Tales de Mileto, consideró al agua como esta materia esencial, la cual podía tomar las formas de niebla, agua ó tierra.

Por su parte, Anaximandro, presentó que el principio de todas las cosas era un medio continuo, eterno e infinito y del cual todo surge y al cual todo vuelve, al que llamó "apeirón" (lo que se conocería más tarde como "éter"). A su muerte, su sucesor Anaxímenes, sostuvo al aire como aquello de lo que todas las cosas consisten y que permite la vida del universo. Las diferentes formas de materia las explicaba por medio de los procesos de condensación y rarefacción; así el aire rarificado era fuego, en tanto el aire condensado producía agua, la que por condensación formaba tierra, creencia que había de sobrevivir hasta el siglo XVII.

Cincuenta años más tarde, Heráclito de Efeso, sostuvo al fuego como la materia prima del universo y asoció a una especie de fuego con el alma. Desarrolló un sistema dinámico de acuerdo al cual todo se transforma continuamente. Su sistema se componía de: fuego, agua y tierra interconvirtiéndose uno en otro así la vida se mantenía por el equilibrio existente entre el fuego y el agua, cuando éste se rompía sobrevenía la muerte. Sus esfuerzos por explicar el macrocosmos y relacionarlo con el microcosmos (el hombre) le llevó a la primera concepción del metabolismo.

En oposición a estas teorías surgieron otras encabezadas por Empédocles, quién propuso la existencia de cuatro elementos fundamentales: aire, fuego,

agua y tierra, los cuales no eran susceptibles de intercambiarse, sino mediante la mezcla de éstos en diversas proporciones era como se originaban las diferentes formas de materia. Los cuatro elementos estaban regidos por atracciones y repulsiones y dotados de dos pares de cualidades antagónicas, conviniéndose según el siguiente esquema:



Estas teorías fueron extrapoladas al hombre, de tal manera que los músculos, la sangre, los nervios y los huesos se componían de los mismos cuatro elementos en proporciones definidas.

Sus especulaciones abarcaron también la nutrición, creando las teorías de la asimilación directa, bajo las cuales cada órgano tomaba del alimento sólo los elementos que le eran afines para producir sus propios tejidos.

Los átomistas

Su principal representante fué Demócrito, quien sostenía un universo formado por átomos sólidos e indestructibles, haciéndose extensivo a los seres vivos, cuya alma se componía de una clase especial de átomos, pequeños y esféricos, dotados de una gran energía cinética. El rápido movimiento de los átomos se traducían en el calor animal, si el enfriamiento del cuerpo al morir se debía a la fuga de los átomos del alma a través de los poros de la piel. Por ello era necesario reemplazar los átomos perdidos por un aporte de nuevos átomos del alimento y de esta forma el cuerpo permanecía inalterable.

Teorías Aristotélicas

Con Aristóteles la teoría de los cuatro elementos alcanzó su máximo desarrollo, introdujo un nuevo elemento la "quinta esencia", para conformar la substancia básica del universo.

Hizo una diferenciación entre los seres vivos y los inanimados, estableciendo la importancia de la nutrición, el crecimiento y la reproducción como características de los seres vivos . . .

Sus teorías metabólicas involucran al calor y éste a su vez al pneuma, substancia etérea, intermedia entre la materia y el espíritu, de gran movilidad y que dotaba a los seres vivos del calor vital por medio del cual y por cociones — (digestiones) sucesivas en el estómago, el hígado y el corazón se producía la — transformación de los nutrientes en sangre, de la cual surgía el pneuma y renovaba todas las partes del cuerpo.

Galeno y sus teorías metabólicas

Galeno, sostenía a los cuatro elementos como un producto de cuatro cualidades primarias : frío, caliente, seco, y húmedo; siendo el fuego caliente y seco, el agua fría y húmeda, el aire caliente y húmedo, en tanto la tierra seca y fría. Mediante la modificación de las proporciones en las que se encontraban dichas cualidades se hacía posible la transformación de un elemento en otro. De esta manera sus teorías consideraban al metabolismo como la alteración de las cualidades de los cuatro elementos presentes también en los alimentos, por medio del calor , transformándolos en linfa y ésta en los humores los cuales empleaban los tejidos del cuerpo. Consideró que los alimentos eran modificados inicialmente por la saliva, y posteriormente por el estómago mediante el calor originado del pneuma, realizándose enseguida una selección de los componentes útiles , los que pasaban al intestino y de aquí al hígado donde se transformaban en la sangre .

PROTO-BIOQUIMICA POSTGALENICA

Las bases de la proto-bioquímica griega ,permanecieron en el pensamiento oriental durante los siglos siguientes , bajo el pneuma galenico (especie de aire - que contenía el calor vital) y los cuatro elementos aristotélicos .

Galeno y sus seguidores consideraron al metabolismo como una serie de digestiones engendradas por el calor . Basado en ello Jean Fernel , uno de los más prominentes galenistas ,hizo la analogía entre la digestión estomacal y el cocinado de los alimentos , señalando que se involucraba un espíritu y un calor innatos . (19)

Surgimiento de la alquimia

La más remota manifestación de ciencia se encuentra - en las civilizaciones que se establecieron en las cuencas de los rios Eufrates y Nilo , en el cuarto y quinto milenio A.C. (periodo neolítico) , entrando a la edad de bronce .(29)

Un siglo despues surge la Grecia Jónica a lo largo de los litorales y las islas griegas , para extenderse a todo el continente europeo . Al oriente se encontraban las maduras civilizaciones de Mesopotamia , Fenicia , Persia , Egipto , China e India , de las que salió la civilización para extenderse en occidente con la nuevas culturas , como producto de la conquista , y la colonización.

Es importante hacer notar que las épocas anteriores al nacimiento - de la cultura griega , se caracterizaron por el predominio de las artes sobre la ciencia y es con esta cultura que surge una curiosidad sobrenatural que impele al hombre a comprender más que a conocer .

La ciencia en la cultura clásica griega llegó a la decadencia con la conquista de Grecia por Alejandro el Grande , en el año 332 A.C., seguida de la consolidación de su imperio con la fundación de la ciudad de Alejandría en la desembocadura del rio Nilo. A su muerte , el reino fué dividido en pequeñas colonias, sobresaliendo Egipto , bajo el mando de la dinastía de los Tolomeos , quienes decidieron hacer de Alejandría la capital del mundo , con su Museum o templo de las Musas (equivalente a una universidad) y su gran biblioteca atrajo a los sabios más eminentes de aquella época , lo que se tradujo en una diversidad de pensamientos que crearon nuevas filosofías y religiones .

En este crisol se fundieron la filosofía griega, el misticismo de oriente y la tecnología egipcia para dar origen a una ciencia mucho más herética de la que se había conocido en el mundo antiguo; esto es la Alquimia. (31).

La filosofía griega y en particular las teorías mecanísticas de Aristóteles continuaron aplicándose con el afán de lograr un esquema general que explicara los diversos fenómenos del universo. Así era sostenido por los estoicos que todo fenómeno tenía una causa, la cual tomaba la forma física de una especie de corriente de aire o gas, "el pneuma" que se encuentra presente en todas las cosas.

Con el paso del tiempo y debido a la influencia de las nuevas religiones que se establecieron en Alejandría, la filosofía helenística fue modificándose hasta convertirse en una filosofía mística, casi una religión.

Por otra parte se produjo otro tipo de influencia con un enfoque mucho más práctico, la de los artesanos egipcios cuyos esfuerzos estaban centrados en imitar los metales preciosos, cambiando el color de la superficie del metal mediante el empleo de un sinnúmero de reactivos. De esta manera de la unión de la filosofía y la tecnología artesanal surgió la alquimia.

Los alquimistas representan los primeros proto-bioquímicos al considerar al universo como viviente en su totalidad, su interés por explicar los fenómenos vitales les llevó no solo a hacer interpretaciones de la naturaleza en función de los cuatro elementos y el pneuma Galénico, sino que fueron los primeros en realizar el análisis químico de la materia viva. No obstante que sus estudios no se fundamentaron en el método científico desarrollado por Galileo, sino en una mezcla de teorías filosóficas y religiosas. (19).

Mediante la adaptación de las reglas e implementos de la cocina, crearon el primer laboratorio el que además contaba con un oratorio. En base a su conocimiento práctico poseían una extraordinaria habilidad para crear con gran ingenio; alambiques, hornos, baños de calentamiento, todo un equipo y una amplia gama de reactivos, observando profundamente los cambios que se producían en éstos.

En un principio intentaron preparar sustitutos de menor valor de los metales preciosos, en base a la teoría de Aristóteles de que todas las cosas tienden a alcanzar la perfección, sostuvieron que los metales comunes podían llegar a la perfección del oro, mediante una serie de artificios los que producían cambios en el mineral hasta llevarlo a un estado casi primario (muerte simbólica). Bajo -

La acción de un calentamiento suave, cierto espíritu y reactivos, el material re-
sacia alcanzando la perfección del oro. Además se adicionaba una pequeña cantidad
de metal noble como un "fermento ó semilla", puesto que se pensaba que los meta-
les nobles se desarrollaban a partir de semillas como las plantas, y bajo el in-
flujo del espíritu quintesencial.

Emplearon una infinidad de reactivos, la mayoría de los cuales se pre-
paraban por destilación, adquiriendo gran importancia esta operación al ofrecer -
la posibilidad de hacer realidad los sueños de la transmutación, al permitirles -
aislar el espíritu de toda materia, capaz de transformar una materia en otra .

Alquimia china

Muy lejos al otro extremo del viejo mundo se desarrolló la alqui -
mia china, siendo el antecesor de todas las otras etapas de la alquimia y cuya --
tradicción en la elaboración de elixires de inmortalidad estaba estrechamente liga
da a la producción de oro artificialmente . (35).

En los comienzos de la civilización china, las artes ya involucraban-
la química, siendo el cobre, el oro y la plata los primeros metales conocidos, --
más tarde el plomo y el mercurio llegaron a ser de gran importancia para los al -
quimistas, de los cuales prepararon varios compuestos.

Los creyentes Taoístas introdujeron a la alquimia una serie de espe -
culaciones filosóficas y conceptos mágicos, mediante los que pensaban controlar -
la naturaleza para su provecho. De esta forma consideraban a todas las cosas for-
madas por cinco elementos : metal, madera, tierra, agua, y fuego.

Consideraban la posibilidad de la inmortalidad, y más tarde en base a
que el oro es incorruptible, pensaron obtener la vida eterna por medio de la in -
gestión de oro ó algún derivado de éste . Así la alquimia china se ocupó de dos -
aspectos principalmente: la producción de oro a partir de metales comunes, y la -
preparación de formas ingeribles de este metal noble, que a manera de una medicina
traería la inmortalidad como un elixir mágico.

El mercurio era muy apreciado por los alquimistas chinos, conocían su
preparación a partir del cinabrio (oro rojo) el que era considerado mucho mejor -
como elixir de inmortalidad que el oro.

También se creía que la transmutación se podía lograr mediante un elix

ir especial , siendo éste el mismo que causaba la inmortalidad y que más tarde en la alquimia europea se le conoció con el nombre de "piedra filosofal".

En el siglo VI A.C., la alquimia china se separa en dos ramas completamente independientes : una exotérica , basada en métodos puramente químicos y una segunda esotérica en la cual la terminología y operaciones químicas estaban ligadas íntimamente a conceptos místicos y filosóficos . Estas dos ramas dieron origen a las teorías del "elixir externo" y "elixir interno", la primera abarcaba brebajes de longevidad obtenidos de sustancias orgánicas e inorgánicas , incluso metales . La segunda teoría sostenía la formación de un elixir de longevidad por el mismo organismo humano a partir de los propios tejidos , con la práctica de ejercicios respiratorios gimnásticos , una especie de yoga que incluía la meditación . (31)

Gradualmente la alquimia china se perdió en supersticiones por lo que no hizo mayores aportaciones .

Alquimia árabe

La cultura árabe heredó la alquimia junto con otros conocimientos de la ciencia griega , fué introducida a Siria y Persia por los nestorianos al ser exiliados del imperio bizantino. (29)

Pero también tuvo una importante aportación de la alquimia china , la que se introdujo a Bagdad con los viajeros chinos.

Alcanza su auge entre los siglos IX y XI , como una combinación de los elementos macrobióticos y la transmutación de los metales .

La obra más sobresaliente es el "Jabirian Corpus" , que se atribuye a Jabir- Ibn - Hayyan , quien es considerado el máximo alquimista del mundo musulmán . (19)

Su criterio para clasificar las sustancias se basó principalmente en sus propiedades físicas , de esta forma dividía las sustancias conocidas en: espíritus (cuerpos volátiles como el azufre y el alcanfor) , metales , y minerales (cuerpos no volátiles y no metálicos) . De acuerdo a la tradición griega — consideraba a los metales como una mezcla de mercurio y azufre (cuerpo y espíritu) , constituyendo el azufre la parte inflamable y volátil . Presentándolos — también provistos de cuatro cualidades ; dos internas y dos externas , por medio de la alteración de la proporción de estas cualidades surgía la transmutación .

Para eliminar la baja calidad de los metales comunes , los alquimistas jabirian os empleaban el "elixir supremo" , considerando que este podía ajustar las proporciones de las cuatro cualidades en un cuerpo y transformarlo en otro.

Los trabajos de Jabir describen un sinnúmero de destilaciones de -- productos animales y vegetales , obteniendo casi siepre como resultado la forma ción de gases , materiales inflamables , liquidos y cenizas .

La destilación proveía a los alquimistas de supuestos elementos puros , provistos de dos cualidades ,obteniendo así :

Un líquido , identificado con el agua (frio y húmedo).

Un cuerpo inflamable , llamado grasa o aceite , identificado con el aire (calien y húmedo) .

Una substancia colorida , combustible , llamada fuego o tintura , identificada- con el fuego (caliente y seco).

Un residuo mineral seco, identificado con la tierra (frio y seco) .

Los alquimistas centraron sus esfuerzos en aislar elementos puros -- con una sola cualidad , obteniendo a partir de su tintura el elemento completa- mente caliente y que probablemente sería el antecedente de lo que más tarde se conocería como "piedra filosofal"; elemento del que carecían los metales comu- nes .

Habiendo obtenido los elementos puros requerían mezclarlos en pro- porciones numericas específicas y formar un elixir , el que al aplicarlo a un metal mediante complicados procesos,transmutaba el metal en oro.

Contemporaneo a Jabir , en el siglo X , se encuentra uno de los más grandes físicos árabes , Abu Bakr Muhammad Ibn Zakariya al - Razi , llamado en latin "Razes", quien con sus numerosos libros de alquimia de los cuales el "se- creto de los secretos" es el más conocido y que había de ser durante los 500 a ños siguientes el principal contribuyente al desarrollo de la química como una- ciencia .

Fué el primer químico práctico cuyos experimentos estaban encamina- dos a la transformación del plomo , estaño , y scero en oro y plata y las piedras ordinarias en piedras preciosas . Transformación que era efectuada por medio de un polvo o líquido , producido en el laboratorio y que a manera de una potente- medicina , realizaba la transformación .

Todo era posible bajo el punto de vista de que todas las clases de-

materia poseen cualidades específicas que pueden incrementarse o bien debilitarse por medio de la adición de otras formas de materia con atributos similares u opuestos a la sustancia por transformar .

Otro alquimista árabe , Geber , vivió probablemente un siglo después , aunque no se tiene la certeza , hay quienes sostienen que fué la misma persona que Jabir . Se sabe que Geber estudió y mejoró los métodos de sublimación , destilación , fusión y cristalización , así también preparó nuevas sustancias como el óxido y el sulfuro de mercurio y los ácidos sulfúrico y nítrico .

Otra gran aportación de los alquimistas árabes fué lo que ellos llamaron "aguas cáusticas" , que eran empleadas para disolver los metales , este término incluía tanto a los ácidos como a los alcalis .

A partir del siglo XI llega la decadencia del mundo musulmán, el gran imperio se derrumbaba con la consecuente separación de sus provincias más lejanas , la ciencia perdió el rumbo bajo los embates de la religión (predicando que la ciencia disminuía la fe en el origen del mundo y su creador), acrecentándose así el desinterés por la ciencia .

Alquimia medieval europea

No obstante que la ciencia en el oriente se debilitaba , ésta adquiría una nueva vitalidad en occidente , en las ciudades españolas de Córdoba y Toledo , extendiéndose de ahí a toda la Europa . (29)

La tradición de la alquimia árabe en su madurez fué introducida al mundo occidental en el siglo XII (hacia 1110-60) , por el inglés Robert de Chester , quien vivió en España durante muchos años , y debido también a las primeras traducciones del árabe al latín de un sinnúmero de obras clásicas . De esta manera las obras de Aristóteles , Euclides , Arquímedes y otros se encontraban al alcance del mundo culto en un lenguaje comprensible .

La actitud de los alquimistas medievales fué la primera que se puede llamar completamente proto-bioquímica , aproximándose a la visión de que toda la naturaleza está viva . adoptada en la búsqueda de la perfección de la materia y su extensión a la trascendencia . (19)

Los alquimistas en su animismo cósmico interpretaron el universo — por medio de una combinación de experimentos químicos y doctrinas filosóficas

o religiosas , creando un simbolismo místico en sus operaciones químicas . Vi - viendo en una época en la que no existía el concepto de molécula , consideraban a todas las cosas como obra de un espíritu quintesencial , presente no sólo en plantas y animales sino también en minerales y se esforzaron en aislarle . Con tal objeto , fueron destiladas todo tipo de materias .

En el siglo XVI , cambia la orientación de la alquimia y se situa - fuera de los esquemas nebulosos del universo , se desarrolla un amplio sistema de simbolos adaptados a las necesidades de la religión cristiana .

La iatroquímica

Etimológicamente significa "la química médica" , y constituyó -- los primeros intentos por aplicar los conocimientos de la alquimia , para expli - car los procesos biológicos en función de los fenómenos materiales . (26)

La iatroquímica se desenvuelve en China , a partir del siglo XI al XVII , continuando con la tradición de los elixires , se buscaba aislar algún - componente del elixir interno , que fuera útil para fines médicos . Por ello -- los iatroquímicos chinos emplearon un sinnúmero de tejidos y secreciones orgáni - cas para obtener una substancia eficaz en el tratamiento de las enfermedades . De esta manera prepararon mezclas cristalinas de substancias que hoy conocemos como hormonas esteroidales . (19)

Los iatroquímicos del siglo XVI , abandonaron las teorías Aristóte - licas basadas en la observación de la naturaleza y la elaboración de razonamien - tos filosóficos , para desentrañar sus secretos a través de sus investigaciones - químicas .

La iatroquímica tuvo su principal representante en Philippus Theo - phrast Bombast Von Hohenheim , quien adoptó el nombre latinizado de Paracelsus , médico y alquimista que cambió las rutas de la terapia química , reemplazando la preparación de oro por la de potentes drogas . Prefiriendo los remedios de ori - gen mineral a los biológicos con virtudes simbólicas ocultas, empleó toda clase de substancias proporcionadas por la alquimia para el tratamiento de sus pacien - tes . (26)

Paracelsus , se inclinó por dar un sentido dinámico a la naturaleza basándose en platonismos y neoplatonismos . Reconoció cuatro elementos : tierra, aire, agua, y cielo , explicando que uno de estos constituía la quinta esencia -

de cada cosa , así como cada uno de estos tenía un "archeus" o espíritu regente. Todas las cosas tenían su origen en tres principios: sal, mercurio, y azufre , representando este último el principio de combustión , el mercurio el de fluidez y la sal el de fusión .

Refutó el concepto según el cual se le asignaba a la digestión un calor innato , considerándola debida a una serie de reacciones químicas . Se esforzó por hacer una distinción entre las fuerzas de la vida (esencia de la vida) y las sustancias inherentes a la vida , considerando que estas fuerzas de la vida podían ser aisladas por medio de la química ; separando la esencia , -- concentrándola en pequeñas cantidades libres de masa las que podían ser usadas como una medicina , y abandonando la materia muerta . Paracelsus inició así el interés por la extracción de sustancias con actividad bioquímica . Presentaba al metabolismo como obra del archeus del hombre el cual separaba en el estómago los nutrientes, de los desechos , y los reducía correspondientemente en mercurio, azufre y sal .

Posteriormente , como un opositor a las teorías de Galeno y Paracelsus , aparece Johan Baptista Van Helmont , quien descubrió que el ácido clorhídrico es un factor digestivo esencial .

Al igual que Paracelsus consideró una química propia del cuerpo humano , en base a ello todos los fenómenos metabólicos se originaban por fermentaciones . (19)

Proponía que el alimento sufría varias fermentaciones en el organismo , las que implicaban la neutralización de sustancias ácidas y básicas del organismo ; lo cual constituyó el fundamento para las teorías de una de las figuras centrales de la iatroquímica , Franciscus Delevoë Silvius , quien de acuerdo a ello presentaba a las enfermedades causadas por una excesiva acidez , la que debía ser neutralizada para curar la enfermedad . (26)

Silvius , señaló la importancia de la saliva en la digestión , explicando que la degradación de los alimentos se efectuaba por fermentaciones , por la acción del agua , del aire , del fuego vital del corazón .

consideró a la combustión y la respiración como procesos similares--suponía que el calor vital de la sangre surgía por colisiones del ácido estomacal, de la linfa , y de la bilis ; las que al ponerse en contacto producían una efervescencia .

PROTO-BIOQUIMICA FLOGISTICA

Desde la antigüedad , Aristóteles ya consideraba la existencia de un calor innato , promotor de todos los fenómenos del cuerpo humano , sin embargo no pudo establecer una relación entre este y el aire que se introduce en el organismo durante la respiración . (19)

Fué con Paracelsus y otros galenistas , que se reconoció el papel - del aire como soporte del fuego vital , considerando a una mezcla de aire y fuego (el pneuma) como el origen de la vida .

Durante la edad media , con el descubrimiento de la pólvora , surgieron una serie de especulaciones y analogías entre la explosión química y la tempestad , llegándose a la idea de que los componentes de la pólvora debían estar presentes en el aire , dando origen al concepto de un "espíritu nitroso" del aire .

Como la pólvora se inflamaba al contacto con el fuego y este se promovía por el aire , se estableció que la respiración se producía por el espíritu nitroso del aire . Con ello fueron elaborándose una serie de hipótesis sobre el mecanismo de la respiración , así en 1636 , Fludd sostuvo que el espíritu nitroso del aire se incorporaba a la sangre y sostenía la vida .

Por su parte , R. Lower , demostró que el color brillante de la sangre arterial se debía al espíritu nitroso del aire , así también Johannes Mayow proponía que el aire entraba a la sangre , donde era desprovisto del espíritu nitroso , el cual venía acompañado de partículas sulfurosas , produciendo una fermentación acompañada de producción de calor , mostrando además que un animal no podía vivir donde una vela no ardía , lo que le llevo a sospechar la presencia un principio vital en el aire .

De ésta forma se llegó a la conclusión de que el aire juega el mismo papel en la respiración y la combustión , señalándose que el calor animal era producido durante la exhalación del aire , lo cual descartaba al calor innato , pero nunca se menciona la expulsión de algo durante la respiración . Fué - Joseph Black , quien en 1757, indicó la expulsión de lo que llamó "aire señalado" (CO_2) durante la respiración .

Posteriormente , durante la segunda mitad del siglo XVIII , fueron relegadas estas teorías , al hacer su aparición la corriente filosófica del isotromecanismo , bajo el cual se consideraba a los organismos como máquinas sin-

ples , compuestas por tubos , bombas y fuelles , y cuyo principio de sus movimientos era el alma .

Las teorías iatromecanistas se extendieron rápidamente , lo que hizo a los fisiólogos rechazar la teoría respiratoria del calor innato , asumiendo - que el calor tenía su origen en la fricción , durante la circulación de la sangre por las venas .

Pero sin embargo las teorías iatromecanistas fueron abandonadas con el advenimiento de la "teoría del flogisto" , cuando se revivió el interés por dar una explicación química a la respiración .

El flogisto y su relación con la vida

En base a las antiguos conceptos griegos - todo lo que ardía tenía dentro de sí el elemento fuego , el que era liberado al arder .

Más tarde , en la edad media , según las teorías de Paracelsus , el azufre era la parte combustible de todas las cosas . A principios del siglo --- XVIII , en 1702 , George Ernest stahl , formuló la "teoría del flogisto" , al - observar que toda substancia combustible tenía un principio de inflamabilidad al que llamó "flogisto" (hacer arder) , y que se encontraba encerrado en el material y era liberado al arder , manifestandose como una flama . (19)

Stahl , desarrolló en base al flogisto , un esquema que explicara - la combustión . Soe tenía que los objetos combustibles eran ricos en flogisto , y la combustión implicaba su desprendimiento al aire , de donde era extraido - por las plantas y de aquí pasaba a los animales , finalmente regresaba a la atmósfera cerrando el ciclo . (1)

Consideró que el aire era útil indirectamente a la combustión , al servir como transportador del flogisto hacia otra cosa según se iba desprendiendo , en tanto el material incombustible al no contener ya flogisto no podía seguir ardiendo .

La teoría del flogisto se encontro con opositores al no poder explicar porque los metales al calcinarlos aumentan de peso , cuando la teoría establecía lo contrario , más sin embargo para los químicos del siglo XVIII , era - más importante el cambio de aspecto o propiedades de las substancias , que un simple cambio de peso .

durante más de un siglo la teoría del flogisto dió una explicación satisfactoria a la combustión y muchos precursores de la química moderna la aceptaron , hacia 1770, era casi universalmente aceptada , en b́ase a estos conceptos fué preciso tratar de comprender los cambios gaseosos involucrados en la respiración, cuya naturaleza permaneció indefinida hasta el último cuarto del siglo XVIII , debido a que se desconocía la naturaleza de los gases que componen la atmósfera .

En 1757, Joseph Black , mostró que el CO_2 es expulsado en burbujas durante la fermentación , así también es exhalado constantemente durante la respiración , por lo cual debía estar presente en el aire . Más tarde , en 1776 , Henry Cavendish , obtuvo el hidrógeno , al descomponer el agua en sus componentes , mostrando que el agua no era un elemento como lo sostenía la antigua teoría de los 4 elementos . (1)

En la década de 1770-79, Priestley , empezó a estudiar otros gases, descubrió en 1774 el "aire desflogistado" (oxígeno) , al experimentar con el polvo rojo que se había formado al calentar el mercurio en un crisol , observando el desprendimiento de un gas semejante al aire , pero con una capacidad mucho mayor para mantener vivo a un ratón , y en el que una llama ardía mas intensamente , pensando que este aire debía estar ávido de flogisto y lo llamó aire desflogistado .

En el mismo año , Andrw Duncan , enlaza la teoría del flogisto a la del calor animal , indicando que el desprendimiento del flogisto durante la circulación de la sangre arterial producía el calor .

Por otra parte , Priestley , estaba convencido de que el promotor de la respiración era la sangre que estaba en contacto con los pulmones , parte de este aire se combinaba con la sangre y le confería su color intenso (26). Dedujo que la sangre se unía al flogisto introducido al cuerpo por los alimentos y se expulsaba en forma de aire fijo , al nivel de los pulmones . Reconoce así por vez primera la importancia bioquímica de la respiración y el papel fundamental del aire desflogistado en ella , reduciendo el fenómeno respiratorio a un intercambio gaseoso . Encontró en 1777 , que este mismo aire desflogistado se producía por la acción de la luz solar sobre las plantas verdes .

En forma independiente , Karl W. Scheele , mostraba que el aire se

compañía de nitrógeno y "aire fuego" (oxígeno) , por lo cual era una mezcla y no un elemento como se le consideró . (19)

En 1778, Patricus Dugud Leslie , presenta a la respiración como un moderador del calor del cuerpo y un medio de eliminar el exceso de flogisto .

Hacia fines del siglo XVIII , Black , introdujo el concepto de "calor latente" , desarrollando además métodos para medir la capacidad calorífica, lo cual finalmente hizo posible la demostración experimental de la relación — entre combustión y respiración .

En 1779, A. Crawford , intentó probar que la capacidad calorífica - de un cuerpo disminuía con la adición de flogisto y se incrementaba al eliminarlo . (19)

Fin de la teoría del flogisto

En 1772, Antoine Lavoisier , mientras buscaba un sistema de alumbrado nocturno , se interesó en el fenómeno de la combustión y comenzó a experimentar sobre ella. (19)

A fines de ese año , encontró que cuando el fósforo o el azufre arden , incrementan su peso original . En 1774 se enteró del descubrimiento de — Priestley , y pensó que las sustancias al arder tomaban algo del aire en lugar de desprenderlo. Reprodujo el experimento de Priestley , con un mejor control , colocando el mercurio en un recipiente cerrado de vidrio , lo pesó , lo calentó y después de doce días lo retiró del fuego , volviéndolo a pesar no encontró variación alguna . Cuando abrió el recipiente , el aire entro violentamente , lo que indicaba que parte del aire se había consumido , dejando un espacio vacío , en ese momento pesó el recipiente y encontró un aumento de peso , por lo que pensó que este aumento se debía a que algo se había combinado con el mercurio - al calentarlo . Para confirmar invirtió el experimento , calentando el polvo rojo a una temperatura mayor , obtuvo el mercurio y un gas igual al aire desflogistado , al que llamo "oxígeno" , invalidando con ello la teoría del flogisto.

La respiración como una combustión lenta

En 1777, Lavoisier , llegó a la conclusión de que la respiración en forma similar a la combustión es capaz de generar calor .

Finalmente en 1779 , concluyó que el oxígeno era el causante de la combustión y fundamentándose en las primeras mediciones del calor disipado por un organismo vivo , presentó junto con Pierre Simón Laplace , en 1783 , su teoría del calor animal , según la cual el calor se originaba del oxígeno , el que era tenido - por una mezcla de oxígeno y calor (calórico) . (19)

Realizando un balance energético en la respiración y la combustión en una vela , determinaron la cantidad de CO_2 producido por un cerdo de Guinea, al que posteriormente colocaron en un calorímetro y midiendo por el hielo fundido la cantidad de calor producido por este . Encontraron que en ambos procesos la cantidad de CO_2 producido y la cantidad de calor obtenido eran equivalentes, por lo que presentaron a la respiración como una combustión lenta .

La relación entre el calor animal y el alimento fué establecida por primera vez por Lavoisier y A. Seguin , en 1789 , al sugerir una proporcionalidad entre la respiración y la digestión , señalando que los animales reponían - por medio del alimento lo que perdían durante la respiración . Un año más tarde, en 1790 , demostraron la importancia de la transpiración como un moderador de - la temperatura del cuerpo humano . De este modo sus conclusiones constituyen -- los fundamentos de la bioenergética . (26)

La revolución química

Los descubrimientos de Lavoisier hecharon por tierra la teoría del flogisto y marcaron el inicio de la revolución química , durante la cual la química adquirió una estructura coherente , lo que indirectamente constituyó un gran adelanto para la bioquímica .

La teoría de los cuatro elementos desapareció , cuando se supo que la destilación de los materiales orgánicos producía agua y CO_2 , esto mostraba - que los organismos están formados por carbono , hidrógeno y oxígeno , posteriormente se vió la presencia del nitrógeno en su composición .

En 1789 . Lavoisier , enuncia la ley de la conservación de la materia , desarrollando además los primeros métodos para el análisis elemental de - sustancias orgánicas . (19)

De esta manera hacia fines del siglo XVIII , muchas sustancias biológicas eran ampliamente conocidas .

La bioquímica como ciencia sólo pudo surgir , despues de que se hizo una clara-distinción entre átomo y molécula , lo que permitió elaborar un inventario de - las sustancias químicas , y no obstante que apenas se iniciaba el desarrollo - de la química del carbono muchos compuestos fueron reconocidos como constituyen- tes de los organismos vivos . Así , Michel Eugene Chevreul , desarrolló los mé- todos analíticos para la identificación de sustancias orgánicas (lo que él lla- mó principios proximales) , aislando las sustancias de los organismos sin mo- dificación alguna .

En 1809 , encontró al tratar los cristales de jabón con ácidos mine- rales , que las grasas se componen de una mezcla de ácidos grasos que más tarde logró aislar de materiales biológicos, así también reconoció en las grasas una sustancia a la que llamó glicerina .

Tiempo después , en 1826 , F. L. Hünefeld , sugirió por primera - vez el fenómeno de biosíntesis de los principios proximales y en bási al análi- sis de albúmina , grasas , ácido láctico y otras sustancias biológicas , consi- deró a la albúmina como el origen de las diferentes proteínas presentes en el - organismo, lo que estaba en contraposición con otros autores , quienes conside- raban a las proteínas de una naturaleza indefinida .

En 1828 , Friedrich Wöhler , realizó la primera síntesis orgánica , obteniendo la urea , apesar de que Berzelius había establecido que sólo los or- ganismos vivos podían sintetizar sustancias orgánicas , gracias a su fuerza vi- tal . (32)

Posteriormente cuando la química orgánica alcanza su auge , con la ayuda del análisis elemental y el esfuerzo de varios investigadores , fué posi- ble delucidar la naturaleza de las sustancias que constituyen a los seres vi- vos , así como la fórmula empírica de muchas sustancias naturales . (19)

FOTOSINTESIS

Tomando en cuenta que los animales , incluyendo al hombre , son fundamentalmente heterótrofos , dependiendo para su alimentación de los vegetales ; es de esperar que los antiguos ya se ocuparan de estos y comenzaran a formular hipótesis sobre la naturaleza de los vegetales . (28)

Según los postulados de los atomistas , también las plantas estaban formadas por átomos , característicos para cada una , así los átomos de una vid eran diferentes a los de un olivo , en cuanto a lo referente a la nutrición de estas , ya se establecía la estrecha relación entre las plantas y el suelo , en donde se localizaba un agente inteligente que tomaba del medio sólo los átomos útiles a la planta .

Así también se pensó que las plantas tenían su origen en el agua , la que al solidificarse se transformaba en tierra y a su vez de esta surgirían los vegetales , empleando de esta forma la interconversión de los elementos --- agua y tierra .

Con los alquimistas , las teorías puramente filosóficas empiezan a ser regidas por la experimentación .

Los primeros experimentos sobre la fisiología vegetal surgen con Van Helmont , quien expuso :

"Tome una vasija de barro , en la que puse 200 libras de tierra que había sido secada en un horno , la humedeci con agua de lluvia e implante en ella el tallo de un sauce que pesaba 5 libras ; después de 5 años , volvi a sacar la tierra y hallé las mismas 200 libras . Así 164 libras de madera , corteza y raíces surgieron del agua unicamente " . Con esto demostró que la planta no proviene del suelo , ya que este queda inmutable, siendo el agua la que se transforma .

Por otra parte , Edme Mariotte , concluyó que en el suelo no existían tantas clases de átomos como tipos de plantas existen, refutando así la teoría atomista .

Las hojas y los cambios gaseosos

En un principio se pensaba que las hojas sólo -

FOTOSINTESIS

Tomando en cuenta que los animales , incluyendo al hombre , son fundamentalmente heterótrofos , dependiendo para su alimentación de los vegetales ; es de esperar que los antiguos ya se ocuparan de estos y comenzaran a formular hipótesis sobre la naturaleza de los vegetales . (28)

Según los postulados de los atomistas , también las plantas estaban formadas por átomos , característicos para cada una , así los átomos de una vid eran diferentes a los de un olivo , en cuanto a lo referente a la nutrición de estas , ya se establecía la estrecha relación entre las plantas y el suelo , en donde se localizaba un agente inteligente que tomaba del medio sólo los átomos útiles a la planta .

Así también se pensó que las plantas tenían su origen en el agua , la que al solidificarse se transformaba en tierra y a su vez de esta surgirían los vegetales , empleando de esta forma la interconversión de los elementos — agua y tierra .

Con los alquimistas , las teorías puramente filosóficas empiezan a ser regidas por la experimentación .

Los primeros experimentos sobre la fisiología vegetal surgen con Van Helmont , quien expuso :

"Tome una vasija de barro , en la que puse 200 libras de tierra que había sido secada en un horno , la humedeci con agua de lluvia e implante en ella el tallo de un sauce que pesaba 5 libras ; después de 5 años , volvi a secar la tierra y hallé las mismas 200 libras . Así 164 libras de madera , corteza y raíces surgieron del agua unicamente " . Con esto demostró que la planta no proviene del suelo , ya que este queda inmutable , siendo el agua la que se transforma .

Por otra parte , Edme Mariotte , concluyó que en el suelo no existían tantas clases de átomos como tipos de plantas existen , refutando así la teoría atomista .

Las hojas y los carbos gaseosos

En un principio se pensaba que las hojas sólo -

durante el día las plantas purifican el aire , sucediendo lo contrario durante la noche .

Algunos autores señalan a J. Ingenhousz como el descubridor de la fotosíntesis , tomando en cuenta que en 1796 publicó el libro "El alimento de las plantas y la renovación del suelo", en donde aplica ya los nuevos conceptos de que el aire desflogistado es el oxígeno , en tanto que el aire fijo corresponde al ácido carbónico , ambos terminos fueron establecidos por Lavoisier , habiendo demostrado también que el agua no se transformaba en tierra por evaporación , sino que el residuo terroso provenía de la vasija , por tanto debía ser el CO_2 del aire el que se convirtió en nutrientes para el sauce de Van Helmont . (26)

Una vez convencidos de la absorción de CO_2 y la producción de O_2 -- por las plantas , había que esclarecer el mecanismo de la nutrición vegetal , por lo que Jean Senebier realizó sus experimentos fijando su atención entre lo que toman y lo que desprenden los vegetales . Descubriendo así la necesidad del aire fijo (CO_2) para las plantas , lo que había sido negado por Ingenhousz anteriormente . Aún que J. Senebier , había logrado extraer con alcohol la clorofila y estudiarla , no pudo establecer una relación entre el pigmento y la fijación del carbono .

Este hecho lo confirmó Nicolas Théodore de Saussure , por medio de numerosos estudios , los que dió a conocer en 1804 , y que le llevaron a afirmar que las plantas capturan del aire atmosférico una gran cantidad de carbono. Más tarde Th. de Saussure da a conocer la intervención del agua en la fotosíntesis .

El desarrollo de la fotosíntesis fué completado por Julius Robert Mayer , al emplear el principio de la conservación de la energía en relación a la nutrición de los vegetales, permitiéndole establecer en 1845 la captación de la energía solar por las plantas verdes .

Las primeras experiencias sobre la nutrición vegetal fueron realizadas en una época en la cual la naturaleza de los cambios químicos era desconocida . Sin embargo , hacia 1850 muchos de los procesos que involucraban cambios físicos y químicos eran descritos en términos científicos precisos .

En 1862, Julius Von Sachs , encontró que el primer carbohidrato --

sintetizado a la luz , en la mayoría de los casos , es el almidón y desde este punto de vista fisiológico se adoptó la interrelación de la fotosíntesis con la nutrición vegetal , realizándose varios trabajos sobre ello . (28)

Hasta los comienzos del siglo XX , se pudo conocer algo acerca del mecanismo bioquímico de la fotosíntesis , reconociéndose la gran importancia — que tienen para este proceso los pigmentos aislados por Sorby , en 1873 en las hojas de los vegetales . Dichos pigmentos fueron aislados en 1817 y un año después J. Pelletier y J.B. Caventou , les llamaron "clorofila". A principios de — este siglo Tswett , logró separarlos por cromatografía y acordó llamar clorofila a los dos pigmentos verdes presentes en las hojas , creyendo que la clorofila era el agente que realizaba la fotosíntesis , pero no pudo probarlo .

El estudio de la fotosíntesis

Los primeros estudios cinéticos sobre la fotosíntesis , realizados por F.F. Blackman y A.M. Smith , sobre diversas plantas , permitieron establecer la relación cuantitativa entre la velocidad de la fotosíntesis , la intensidad de la luz incidente y la concentración de CO_2 , donde se — mostró que la velocidad de la fotosíntesis sólo era función de la intensidad luminosa . (47)

En 1905 , F.F. Blackman , dedujo que la fotosíntesis incluye dos — reacciones , una reacción fotoquímica , seguida de una reacción en oscuridad .

En 1937, R. Hill , trabajando con cloroplastos libres para estudiar la fotosíntesis , encontró que podían producir oxígeno fotoquímicamente si un aceptor de electrones adecuado estaba presente . La reacción es conocida como — reacción de Hill . (6)



Más tarde , S. Ruben y W.D. Kamen , mostraron mediante experimentos con O^{18} , que el oxígeno involucrado en la fotosíntesis se deriva del agua y no del dióxido de carbono .

El mecanismo de la fotosíntesis se desconocía , sólo se sabía que — las plantas al final del proceso sintetizan moléculas de azúcar y desprenden — oxígeno a la atmósfera . Lo que motivó a Melvin Calvin a estudiar en 1937 la —

clorofila y su función en la producción de alimento en los vegetales . (3)

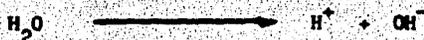
Al finalizar la segunda guerra mundial , Melvin Calvin , inició en Berkeley , sus estudios para determinar cada uno de los intermediarios de la fotosíntesis , con la ayuda de las técnicas del C^{14} y la cromatografía en papel . Empleó para ello un alga unicelular ; la clorella , por ser fácil de cultivar y manejar , colocándola en una campana de vidrio a la cual se le introducía dióxido de carbono marcado con C^{14} , y que era incorporado por las algas durante el proceso fotosintético , variando el tiempo de exposición a la luz y al CO_2 .

Las células del alga se mataban mediante la inmersión en alcohol — hirviendo , o bien a veces utilizaba bajas temperaturas , pero con extracción caliente . El alcohol desnaturizaba las enzimas , extraía los componentes solubles de las células y la reacción se paraba en forma rápida .

Posteriormente analizando los compuestos radioactivos formados , mediante la cromatografía , encontró que para períodos cortos de exposición aparecían ; aminoácidos , ácidos carboxílicos , sacarosa , y ésteres fosfato de azúcares .

Fue necesario acortar el tiempo de exposición , para limitar el número de compuestos formados ; se esperaba que la radioactividad se encontrara sólo en el primer producto . Finalmente , en 1948 , después de varios años de intenso trabajo , Calvin y sus colaboradores , habían conseguido aislar más de veinte intermediarios hasta completar todo el proceso . (3) , (47)

Por su parte , hacia 1940 , C.B. Van Niel , realizó experimentos con bacterias fotosintéticas , que efectuaban la oxidación en un medio carente de oxígeno , en base a los resultados pudo determinar el papel de la luz en la fotosíntesis y la describió con una ecuación simple en la que la luz absorbida — por el pigmento escindía el agua de la forma siguiente :



Siendo posible así una oxidoreducción , de esta forma se conoce que este proceso conduce a la reducción del CO_2 , acompañada de la producción de oxígeno , y que en ausencia de luz se efectúa por medio de enzimas . (28)

En 1945 , H. Burström , demostró que las proteínas pueden ser sínte

tizadas durante la fotosíntesis , mediante el empleo de hojas jóvenes de trigo que contenían diferentes concentraciones de nitratos , poniéndolas a fotosintetizar a bajas y altas intensidades de luz . Las hojas con pocos nitratos e iluminadas a bajas intensidades , convertían todo el dióxido de carbono que absorbían en azúcares ; en tanto a concentraciones altas de nitratos , se absorbía más CO_2 y el exceso se usaba en convertir el nitrógeno en proteínas . (47)

Sin embargo , J.H.C. Smith , trabajando con hojas de girasol , demostró que casi todo el CO_2 absorbido durante la fotosíntesis era empleado en la formación de carbohidratos . De lo que se pudo concluir que los carbohidratos constituyen el único producto primario de la fotosíntesis .

BIOCATALISIS Y TEORIA ENZIMATICA DEL METABOLISMO

No obstante que la enzimología es una ciencia bastante nueva , ya desde principios del siglo XIX , se conocían las manifestaciones de las enzimas , en lo que se refiere a la digestión , respiración , y especialmente la fermentación , la cual era conocida desde la antigüedad . Así mismo en química inorgánica , F.C. Vogel . cita por primera vez en 1812 , la reacción entre el hidrógeno y el oxígeno a bajas temperaturas , catalizada por la adición de carbón . (19)

En aquel tiempo se desconocía la naturaleza biológica de la fermentación alcohólica , y el mecanismo de la digestión continuaba indefinido entre lo puramente químico y lo biológico . Fué a través de los estudios sobre la fermentación y la digestión que se vislumbro la existencia de las enzimas , y después de una larga controversia iniciada en 1834 con el descubrimiento de la levadura como un microorganismo por Ch. Cagniard - Latour , Th. Schwann , y F. — Traugot Kützing .

El descubrimiento de las enzimas

El primer hallazgo de una enzima fué hecho en 1833 , por Anselme Payen (director de un ingenio azúcarero en Paris) , quien descubrió el poder decolorante del carbón , y Jean Francois Persoz , uno de los descubridores de la dextrina . (12), (36)

Payen y persoz , obtuvieron a partir de un extracto acuoso de malta , por tratamiento con alcohol , un precipitado blanco , amorfo y termolábil , capaz de desdoblar el almidón en azúcar . Les impresiono la separación del azúcar soluble , de la cubierta del grano del almidón por lo cual llamaron "diastasa", a este agente ; del griego διαστέλλω = separación , nombre que fué adoptado para las amilasas y que al final se empleó indistintamente para denominar enzimas en general , especialmente en Francia , hasta 1898 , cuando E. Duclaux , propuso el uso del sufijo "asa" , junto con el termino que indicara el tipo de substancia que transformara , para formar el nombre de las enzimas .

En 1834 , se encontró que el jugo gástrico digiere alimento aún fuera del estómago , y Th. Schwann , obtiene en Berlin el agente digestivo , tratando con ácido la pared estomacal de cerdos , denominandole "pepsina" y supuso que actuaba por contacto , ya que una pequeña cantidad de esta , hidrolizaba -

una gran cantidad de albúmina .

En 1837, en Suecia , J.J. Berzelius , trató de dar una explicación lógica a estas observaciones , es así como surgió el concepto de "poder catalítico" , bajo la forma de una fuerza independiente , capaz de hacer surgir en las substancias afinidades que habían permanecido latentes y por medio de las cuales se transpone un cuerpo en otro , llamando "catálisis" a la transformación por tales medios . Cuando Berzelius introdujo el concepto de catálisis , era bien conocido que un gran número de reacciones eran promovidas por extractos de material vivo , sin embargo no se sospechaba que este tipo de reacciones pudieran efectuarse en el interior de la célula . (19)

Posteriormente Berzelius, habló de una catálisis de superficie , ejercida por los tejidos orgánicos sobre los líquidos circundantes : "Si trasladamos esta idea a la naturaleza viva , surge una luz enteramente nueva . Nos hace suponer que en las plantas y animales se realizan millares de procesos catalíticos entre los tejidos y los líquidos , produciéndose multitud de compuestos disímiles , cuya formación a partir de la materia prima común (savia o sangre) , no habíamos podido atribuir a cosa alguna y que en el porvenir resultaran debidos al poder catalítico del tejido orgánico de que consisten los seres vivos" .

A mediados del siglo XIX , no se sabía que la fermentación alcohólica se debía a organismos vivientes y la palabra "fermento" fué aplicada indistintamente para denotar tanto organismos vivos , como la levadura , así como lo que hoy llamamos enzimas , lo que produjo una gran confusión (13) . En 1839 , Justus Von Liebig , propone una naturaleza enzimática de la fermentación , mostrando como la transferencia de los movimientos del fermento al sustrato . (12)

Como todas las escasas enzimas conocidas hasta 1850 eran extracelulares , se consideró que las reacciones enzimáticas eran ajenas a la materia viva , hasta 1858 que Louis Pasteur , mostró que la fermentación es obra de microorganismos , considerando que las reacciones producidas eran el resultado de los procesos vitales de la levadura , originándose una gran controversia , la que terminó en 1897 , cuando Edward Buchner preparó un extracto de levadura libre de células , capaz de producir el proceso fermentativo . Mostrando así que las células de la levadura no eran necesarias para la fermentación .

El reconocimiento de la existencia de enzimas intracelulares comenzó en 1860 , con M. Berhelot , quien aisló de un extracto de levadura , una enzima que hidrolizaba el azúcar de caña , proponiendo que la levadura no era el fermento en sí, sino el producto de este . Sobre esta enzima a la que le dió el nombre de "invertasa" , se basaron los trabajos sobre estos catalizadores en los 60 años siguientes .

No fué sino hasta mediados del siglo XIX , a raíz de que Eberle , mostró que no es menester el estómago para efectuar la digestión , que se aclaró que los fermentos digestivos no son microorganismos . Esto hizo necesario -- distinguir dos clases de fermentos : los organizados (como la levadura) , y los no organizados , hoy conocidos como enzimas , razón por la que William Kühne - introdujo el nombre de "enzimas" , para estos catalizadores biológicos . De $\epsilon\upsilon\sigma\upsilon\mu\tau\eta$ (en la levadura), para remarcar que se encontraron dentro de la levadura , termino que ha sido adoptado universalmente . (13)

Naturaleza de las enzimas

La naturaleza de las enzimas permaneció indeterminada por largo tiempo , debido a la imposibilidad de aislarlas sin la pérdida de su actividad , un siglo completo separa el nacimiento del concepto de enzima y la cristalización de la primera enzima . (19)

Los primeros intentos por reconocer la naturaleza de las enzimas , se basaron en métodos primitivos y debido a la impureza de las preparaciones obtenidas , la determinación de su composición elemental fué errónea .

En 1877, M. Traube , propuso una teoría general sobre la acción enzimática , la cual establecía que las enzimas poseían una naturaleza similar a la de las proteínas y que permanecían inmutables a través de los cambios químicos producidos en los organismos vivos. (12) Aunque esta teoría representaba un gran adelanto , muchos investigadores entre ellos M. Arthus y L. De Jager , se opusieron a la naturaleza proteica de las enzimas , sosteniendo que no eran entidades químicas definidas , ya que algunas otras clases de cuerpos podían adquirir propiedades similares a las enzimáticas . (19)

En 1894 , Emil Fisher , en base a sus estudios con varias enzimas - (con la sacarasa en particular) , sobre la especificidad . Encontró una alta especificidad hacia sus sustratos específicos , lo que le permitió enunciar la --

correspondencia mutua entre enzima y sustrato a manera de una llave y cerradura . (12)

Hacia fines del siglo XIX , G. Bertrand , presentó un trabajo en el que explica que la enzima se constituye de dos parte : una que aisladamente presentaba una debil actividad , y una segunda inactiva , pero que incrementaba la actividad de la primera , implantando así el termino de "coenzima o cofermento" para el segundo de los componentes de la enzima (19) . Pero la evidencia de estas dos partes aparecio en 1906 , gracias a las observaciones de Artur Harden y W.J. Young , quienes encontraron que las enzimas de un extracto de levadura al someterlas a ultracentrifugación perdían moléculas más pequeñas , desapareciendo su actividad fermentativa. La que se podía recuperar al añadirle el filtrado, a estos pequeños cofactores les llamaron "cozimas" , resultando ser una mezcla de varias coenzimas .

Los primeros trabajos formales sobre la purificación de enzimas se iniciaron en 1922 - 1928 , con R. Willstätter y colaboradores , quienes se esforzaron por establecer la naturaleza de las enzimas , mediante el desarrollo de mejores métodos de aislamiento , de estos trabajos el mismo Willstätter , pudo concluir que las enzimas eran una combinación de material coloidal y un grupo de naturaleza diferente, pero químicamente activo , y en base a que ninguna de las enzimas obtenidas en soluciones diluidas daba prueba positiva para proteínas , aunque si presentaban actividad , desechó la naturaleza proteica de las enzimas . La primera enzima que se cristalizó fué la ureasa , en 1926, por J.B. Sumner , a partir de la cascarrilla del frijol (jack-bean) , y apesar del gran impacto causado , los químicos , entre ellos Willstätter , no aceptaron que fuera una proteina . Argumentaron que sólo se trataba de una impureza presente en los cristales de la proteina . (12)

En los años siguientes se desarrollaron los trabajos de John H. Northrop y colaboradores , aislaron y purificaron varias enzimas proteolíticas que al cristalizarlas en estado puro, dieron pruebas contundentes de ser proteínas, con lo que llegó a su fin el escepticismo sobre la naturaleza proteica de las enzimas .

Como resultado de este trascendental descubrimiento , se modificó la teoría enzimática , la que por analogía con los catalizadores inorgánicos consideraba a las enzimas como catalizadores de superficie , provistas de diver

sas irregularidades estructurales o centros activos . (12)

El reconocimiento completo de la estructura de las enzimas estuvo -
enlazado al reconocimiento de las proteínas como macromoléculas bien definidas.
Debido a su extrema complejidad presentaron enormes dificultades . Sin embargo
se lograron importantes deducciones sobre la estructura del centro activo , con
la ayuda de agentes químicos que reaccionan con el grupo funcional que forma el
citio activo modificando su afinidad , por lo que hoy se sabe , por ejemplo que
en varias enzimas la actividad depende del grupo funcional "tio1" (SH) . Sin em
bargo en la mayoría de las enzimas este citio activo está formado sólo por ami
noácidos con una disposición tal que se adapta a la de la molécula del sustrato.

El empleo de sustancias con una estructura semejante a la del sus
trato que le permite combinarse con la enzima , pero si llegar a efectuar la --
reacción , condujo al conocimiento de que no sólo es determinante la estructura,
sino también la conformación espacial de la molécula del sustrato , de lo que -
resulta una alta especificidad entre enzima y sustrato.

Para la determinación de la estructura completa de la molécula de -
una enzima fué necesario encontrar la secuencia de aminoácidos que forman la ca
dena peptídica, lo cual se logró mediante la aplicación del método desarrollado
por F. Sanger , en Cambridge en 1952. Así también fué preciso conocer la estruc
tura terciaria de la enzima, la que permite la orientación del centro activo y
el ajuste al sustrato. La estructura completa de una enzima sólo se ha determi
nado para algunas de ellas entre las que se encuentran la tripsina, la quimo--
tripsina y la lisozima , siendo esta última la primera enzima de la que se lo -
gro dilucidar su estructura tridimensional , trabajo realizado en 1966 por Da -
vid C. Phillips , con la ayuda de métodos de difracción de rayos X , seguida de
una elaborada interpretación matemática .

Cinética enzimática

Hacia fines del siglo XIX , el modo de acción de las enzimas
se encontraba aún en especulación , surgiendo dos teorías significativas :

La primera establecía que las enzimas eran capaces de efectuar com
binaciones temporales con las sustancias a modificar , de tal forma que podían
ser recuperadas al deshacerse la combinación . La segunda teoría fué formulada
por F. Nügeli y consideraba la acción enzimática como una transmisión de vi--

braciones moléculares al sustrato. (12)

La cinética de la acción enzimática fué objeto de numerosos estudios iniciándose los primeros en 1902 , por A.J. Brown , de la British school of - malting and brewing en Birmingham y por Victor Henri en Paris , sobre la velocidad de hidrólisis del azúcar de caña por la acción de la sacarasa , encontrando que dependía sólo de la concentración de la enzima, así la enzima y el sustrato debían formar un compuesto intermedio , el que en determinado tiempo se transformaba en enzima y producto , a una velocidad que se incrementaba con un aumento en la concentración del sustrato , hasta un valor límite el que corresponde a la concentración de reactivo a la cual la enzima se satura , siendo entonces imposible aumentar la velocidad con la adición de más sustrato .

Once años después (1913) , L. Michaelis , amplió la teoría de Brown y Henri y no sólo mostró las diferencias entre las reacciones enzimáticas y las ordinarias, sino que desarrolló un método para evaluar la finidad entre enzimas y sustratos ; mediante la construcción de una curva en la cual se puede determinar directamente la velocidad de la acción enzimática y la concentración del sustrato a la cual se satura la enzima , a este modelo se le conoce como modelo de Michaelis y Menten , que de acuerdo a la siguiente ecuación representa el inverso de la afinidad de la enzima por el sustrato (Km) .



de donde $K_m = k_{-1}/k_{+1}$

Esta teoría fué válida hasta 1925 , que fué superada por la teoría cinética de Briggs-Maldans , de la cual la cinética de Michaelis es un caso extremo .

En 1932. Woolf , desarrolla un método más eficiente , basado en los inversos de los parámetros de Michaelis , y sin embargo no tuvo mucha difusión.

Como estas ecuaciones sólo involucran un sustrato, en tanto que la mayoría de las reacciones enzimáticas requieren dos sustratos , estas expresiones han sido desplazadas por otras mucho más elaboradas .

El descubrimiento y aislamiento de enzimas ha sido de gran importancia , hoy es posible reconstruir sistemas biológicos y esclarecer su mecanismo -

de acción por medio de la obtención de enzimas en estado puro , constituyendo - el método más común , el desmembrar el sistema en sus componentes y analizarlos por separado y ensamblarlos de nuevo para reconstruir el sistema y ver como funciona . Con ello se ha encontrado que el metabolismo consiste en una cadena de reacciones enzimáticas sucesivas , y ha sido posible reconstruir varios de estos sistemas multienzimáticos a partir de enzimas y coenzimas que actúan como eslabones entre una enzima y otra , al poseer la habilidad de actuar como transportadores de grupos químicos definidos , portando este grupo de una reacción catalizada por una enzima a otra molécula en una reacción catalizada por una segunda enzima diferente . En su mayor parte las reacciones enzimáticas son reacciones de transferencia en las que un grupo es transferido por mediación de la enzima . (12)

Siendo la enzimología una área de gran importancia dentro de la bioquímica , sus objetivos han de ir más allá de la simple caracterización y clasificación de las enzimas en un grupo dado de moléculas . Aparte de ello es posible seguir el control enzimático del metabolismo sin tener que interrumpirlo, medir el pH y flujo de moléculas en células intactas , por medio de la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de alta resolución para el fósforo 31. Por lo que se conoce que existe un amplio rango de pH a través de las membranas de microorganismos , pero no así en ciertas células de mamíferos . Lo cual promete que este y otros avances pueden aportar valiosas deducciones sobre el fenómeno de la "cooperatividad negativa" cuyo significado en el control del metabolismo celular es desconocido.

Este fenómeno es muy común entre las enzimas y ocurre cuando la asociación de una molécula de sustrato a la enzima inhibe la asociación de la próxima .

(Fox , L. Jeffrey , Chemical & Engineering News , April 17 , (1978) pag. 16-17)

EL MICROSCOPIO Y EL DESCUBRIMIENTO DE LA CELULA

Invención del microscopio

Ya desde la antigüedad se conocían las propiedades de aumento en las lentes de vidrio o cristal , y ya en el siglo XIII , la lupa era comúnmente empleada por quienes su profesión obligaba a manejar objetos pequeños (relojero, joyeros) y por los mercaderes de telas , para contar los hilos de los paños . (40)

Pero a comienzos del siglo XVII , los sabios hicieron servir las lentes para sus investigaciones . Correspondiendo el mérito de haber dado un uso científico a las lentes , a Galileo , quien en 1609 , vió a través de su "vidrio óptico" los ojos de insectos .

Los primeros microscopios eran instrumentos muy sencillos ; el microscopio simple no era más que una lente con un gran poder amplificador , montada . El microscopio compuesto era una combinación de varias lentes , fué construido entre 1591 y 1608 por los fabricantes de lentes holandeses Mas y Zacharias Janssen . (46)

Por su parte Robert Hooke , fabricó su microscopio simple , fundiendo filamentos de cristal de Venecia , formando una perla de cristal , la cual era pulimentada y fijada con cera a una aguja sobre una placa de bronce o estaño . Estos microscopios daban una imagen clara pero había que aproximar mucho el objeto .

También , R. Hooke , desarrolló dos modelos de microscopio compuesto ; el primero consistía de un tubo lleno de agua , provisto de una lente planoconvexa en cada extremo , el segundo estaba formado por cuatro tubos concéntricos , de tal manera que podía extenderse , al mismo tiempo que se deslizaba sobre una columna con movimientos ascendentes y descendentes e inclinándose para lograr un mejor enfoque . El objeto se fijaba en la punta de un alfiler que al hacerlo girar permitía la observación completa .

El inventor y científico Anton Van Leeuwenhoek , construyó su microscopio que consistía de una lamina metálica en la que se colocaba una lente , y de un mango que terminaba en un vástago para sujetar el objetivo .

Las observaciones se hacían solo con luz solar , pero durante el in

vierno o en días nublados , Hooke , ideó un instrumento de iluminación provisto de tres brazos laterales : uno sostenía una lámpara de aceite , el segundo una esfera de vidrio llena de un líquido claro , el tercero contaba con varias articulaciones y una lente planoconvexa movable . (30)

Todas las observaciones eran hechas por reflexión , ya que no se -- conocían métodos para teñir o hacer translucidas las preparaciones . No fué sino hasta el último tercio del siglo XVII , cuando se empleó el examen de los objetos por transparencia , dirigiendo el objeto hacia el foco luminoso .

En 1704 , Marshall , empleó por primera vez un espejo de reflexión para iluminar la preparación por debajo , permitiendo mantener vertical el tubo del microscopio. (26)

Con la ayuda de estos microscopios rudimentarios Marcello Malpighi , fundó la anatomía microscópica vegetal .

Historia de la célula

No obstante que ya en el siglo XVII , los microscopistas -- habían observado y representado células vegetales y microorganismos , estableciendo las bases para la biología celular , nunca se les presento ni considero como estructura definidas . (26) , (30)

El primero en describir las células fué Robert Hooke , en 1665 , en sus observaciones de piezas delgadas de corcho , en las que encontró una estructura porosa ; como un panal compuesto de celdillas separadas por diafragmas -- transversales . Como el corcho es de origen vegetal , examinó cortes de otros -- vegetales , encontrando la misma estructura porosa en la médula de diversas -- plantas , entre ellas algunas cañas y carrizos .

No sólo observo los diafragmas o membranas celulósicas , sino también las celdillas denominándose "utrículas" y "sáculos" , bordeando a estas se encontraba una membrana lisa y diáfana , en el interior de las celdillas se encontraba un líquido incoloro .

Por otra parte , Nehemiah Grew , descubrió en la raíz y epidermis un parénquima con innumerables poros , el que comparó con un encaje , y a -- las vesículas con la espuma formada en la fermentación del vino dulce .

De acuerdo a esta concepción y utilizando el término de célula , in

Introducido por Hooke, Duhamel du Manceau, propuso en 1758, llamar al parénquima, "tejido celular", debido a su estructura.

Con Lorenz Oken, se desarrolla en 1805, la idea de que todos los organismos nacen de células y están formados por células o vesículas, constituidas por una masa infusorial. Siendo la célula la unidad fundamental de los organismos simples y superiores.

Teoría celular

Ciento setenta y un años después de que Hooke empleó el término de célula y ciento setenta y siete años después de que Malpighi describió los utrículos, la teoría celular presentó su forma definitiva, cuando en 1838, Mathias Jacob Schleiden, consideró a la célula como la unidad fundamental de los tejidos vegetales. (39)

Pero la búsqueda de un principio estructural común a todos los seres vivos, fue convertida en realidad gracias a la teoría celular, la que después de varios cambios se consolidó hacia fines de la cuarta década del siglo XIX.

Durante el siglo XVIII, prevaleció el enfoque de V. Haller, en el que se establece como principio estructural a la "fibra", en base a la estructura fibrosa que revelan al microscopio, las partes sólidas de los tejidos vegetales y animales. (39)

En los comienzos del siglo XIX, la obra del cirujano François Xavier Bichat, marca una nueva etapa, en la que el principio estructural de los organismos es el "tejido", cuando distinguió 21 clases de tejidos a los que erróneamente consideraba elementos irreductibles, fundamentándose en observaciones sobre el comportamiento de cortes de órganos animales, sometidos a pruebas físicas y químicas como; la coacción, maceración, acción de ácidos y alcalis. Sus ensayos "Traite des Membranes" (1800), y "Anatomie Generale" (1801), dieron la pauta para la creación de una nueva disciplina, la Histología.

Una nueva teoría surgió apoyada por Lorenz Oken y R. Dutrochet, postulando el desarrollo del principio fibrilar de la materia viva a partir de pequeños glóbulos (teoría globulista), y el término de glóbulo era ambiguo, encerrando una variedad de supuestas unidades elementales, las que en realidad eran núcleos celulares e incluso células. (19)

Un gran adelanto sobre estas teorías nebulosas, logró el físico y -

naturalista Henri Joachim Dutrochet , quien en 1824 , muestra la semejanza entre la estructura celular de vegetales y animales .

Otro tanto hicieron Jean Evangelista Purkinje y Th. Schwann , al trabajar sobre los principios de la teoría celular . Purkinje encontró en 1837 una analogía entre las estructuras granular y celular de tejidos animales y vegetales respectivamente . Denominando "enquina" al líquido que los rodeaba y empleó el término de protoplasma para describir su apariencia en el estado embrionario .

Por otra parte la aberración acromática en el microscopio fue eliminada por el óptico John Dollond , seguida del perfeccionamiento del microscopio acromático por Charles Louis Chevalier en 1824 , teniendo mayor significado las mejoras realizadas por Giovanni Battista Amicci .

A pesar de estos anticipos y de que en esta época se logró un notable perfeccionamiento técnico del microscopio, la teoría celular no pudo adquirir una forma definida hasta la cuarta década del siglo XIX , a consecuencia de la poca importancia que se le dio al microscopio como instrumento de observación .

Con estos antecedentes el terreno para la teoría celular se encontraba listo , tocándole al botánico Mathias Jacob Schleiden y al zoólogo Theodor Schwann , formularla y generalizarla . (39)

Schleiden, en su trabajo sobre el desarrollo de las plantas "Beitrag zur Phytogenesis" (1838), enmarca a la célula como la clave de la morfología vegetal , presentandola como la unidad básica a partir de la cual las plantas se desarrollan . De tal forma, toda planta es un conglomerado de células, cada una de las cuales es una unidad autónoma . Schleiden dio gran importancia al origen de la célula y trató de explicarlo mediante un mecanismo similar a la cristalización , formándose inicialmente el plasma alrededor del núcleo y finalmente la pared celular que le aisla . Llegando a la conclusión de que las células siempre se originan de otras células .

La obra de Schleiden fue continuada por Th. Schwann , quien en 1838 en su "Mikroskopische untersuchungen über die ubereintimmung in der struktur und in wachstum der thiere und pflanzen" , dio a conocer su teoría celular , insistiendo en un origen celular común a toda materia viviente . Schwann define

a la célula como una capa alrededor del núcleo , diferenciada por sí misma y cubierta por una membrana , conteniendo en su interior una substancia amorfa o -- "blastema" . (19)

Su "Mikroskopische untersuchungen" se compone de tres partes : la primera se refiere al estudio microscópico de la cuerda dorsal del renacuajo , señalando que tenía una estructura semejante al núcleo de las células vegetales , y como encontró una configuración igual en células embrionarias de varios animales , se convenció de que las células debían ser la unidad morfológica de plantas y animales . En la segunda parte explica que aún que existen diferentes tejidos , todos se desarrollan a partir de células embrionarias , y las diferencias entre tejidos se deben precisamente a la diferenciación celular .

La tercera parte de su trabajo introduce el término de metabolismo en el sentido moderno , mencionando que las células tienen su origen en una -- substancia elemental llamada "citoblastema" y del cual las células extraían materiales que modificaban químicamente . Schwann presenta además al calor como -- una consecuencia del metabolismo celular , e indica que todas las partes de la célula sufren modificaciones durante su desarrollo por acción de una causa desconocida a la cual llamó "fuerza metabólica" .

Una última teoría celular , la de R. Virchow y Rudolf Virchow , se ha -- generalizado . En su primera parte coincide con Schwann , señalando a la célula como elemento portador de todas las características de la vida , en su segunda parte enfatiza en la profundidad de las ideas de Schwann sobre la diferenciación celular . (19)

Contribución del microscopio electrónico al estudio de la estructura celular

En las primeras décadas del siglo XX , tras haberse agotado las posibilidades de mejorar el poder de resolución en el microscopio óptico , se hizo evidente la insuficiencia de este instrumento para esclarecer la estructura de los organelos celulares y la distribución de los procesos bioquímicos que -- tienen lugar en la célula , por lo que los citólogos intentaron resolver el problema empleando métodos histoquímicos y la manipulación de células mediante microcirugía , así como también por métodos enzimáticos , los que aunque permitieron la reconstrucción in vitro de los sistemas bioquímicos involucrados en las vías metabólicas , debido a su naturaleza destructiva no pudieron aportar mayor información acerca de su localización en la célula . (19)

Por otra parte, los procedimientos histoquímicos empleados por los citólogos para determinar la distribución de las enzimas dentro de la célula , incluían pruebas coloridas específicas cuyas reacciones dañan la célula .

Ante su impotencia y con el fin de poder explicar por otro medio la correlación entre la estructura y la función de los organelos celulares , se recurrió a las teorías pseudocientíficas de la Biocoloidología , basadas en fenómenos de superficie , cargas eléctricas, y adsorción .

Los más grandes progresos que vinieron a resolver los aspectos estructurales y fisiológicos de la célula fueron hechos después de que E. Ruska , diseñó y construyó el primer microscopio electrónico , entre los años 1930-34 .

Sin embargo , no se obtuvieron resultados inmediatos , y su empleo se vio limitado por la falta de contraste , por el excesivo grosor en los cortes de tejido , y por lo deficiente de la técnica de fijación , dificultades que se lograron superar hasta 1950 .

Unos años antes (1946) , A. Claude y E.F. Fullam , habían construido el primer ultramicrotomo , acoplándolo al microscopio electrónico , para la obtención de cortes de tejido mucho más finos .

Posteriormente , en 1952, G.E. Palade , hace la aportación más importante en el campo de la investigación celular mediante el microscopio electrónico , al introducir la técnica de fijación con tetróxido de osmio , en un medio buffer de pH 7.4 . Lo que le permitió hacer trascendentales estudios sobre la estructura del retículo endoplasmático y la mitocondria .

ESTUDIOS SOBRE LAS SUBESTRUCTURAS CELULARES

Membrana celular

Los primeros microscopistas distinguieron a las células como unidades discretas, y asumieron que presentaban algún tipo de barrera que las aislaba de sus alrededores, esta podía ser detectada con el microscopio de luz pero tanto su naturaleza como sus dimensiones no podían ser definidas.

Los primeros estudios sobre la naturaleza y propiedades de la membrana, surgiéron de la experimentación indirecta. Siendo la membrana demasiado fina para poder observarla al microscopio óptico, pudo sin embargo ser visualizada gracias a los experimentos de Chamber's, realizados en 1922, encontrando que al colocar el citoplasma de huevos de pez, en una solución isotónica de cloruro de amonio, daba rápidamente una reacción alcalina, debido a la penetración del amonio. Si por el contrario el cloruro de amonio se inyecta en la célula mediante una micropipeta, el citoplasma da una reacción ácida a consecuencia de una difusión selectiva del amonio hacia afuera de la célula, mientras que los cloruros permanecen en el citoplasma. (33)

Este experimento implicaba la existencia de una estructura semipermeable que limitaba a la célula en su periferia. Nügeli demostró que la membrana de las células vegetales, no permitía la difusión de pigmentos hacia adentro o fuera de la célula, y este aspecto fué objeto innumerables estudios que poco a poco explicaron la permeabilidad selectiva de la membrana celular.

La permeabilidad selectiva de la superficie celular fué establecida por E. Overton, quien proporcionó los primeros indicios sobre la naturaleza química de la barrera permeable, a la que consideró hace más de cincuenta años compuesta de lípidos, tomando como base la relación entre la solubilidad en lípidos y la permeabilidad. (25)

Precisamente por la notable relación entre estas propiedades de la membrana ante distintos compuestos, hizo que se sospechara la presencia de lípidos en la membrana.

H. Davson y J.F. Danielli, encontraron en 1935, una elevada resistencia eléctrica en las células, la que sólo pudieron explicar por la existencia de una capa de lípidos en la superficie de la célula, la que dificulta la

movilidad de los iones a través de estas moléculas en gran parte hidrófobas , - por consiguiente la conducción eléctrica es pobre y la resistencia es alta . Calcularon para la membrana que una capa de 5 nm y dos moléculas de espesor , bastaba para dar la resistencia presentada por esta estructura . (25)

En 1925 , Gorter , E. y Grendel , F. , demostraron que todos los lípidos extraídos de un eritrocito , ocupaban una superficie dos veces mayor que la que correspondería a una capa única , se pensó entonces que existía en la membrana una doble capa de lípidos , cuyos extremos hidrófobos se tocaban formando un ángulo recto con la superficie .

La presencia de las proteínas en la membrana celular se sospechó cuando Mitchinson , encontró en 1953 , que la elasticidad de la membrana celular y su fuerza , sugerían que los lípidos se encontraban unidos por otro tipo de compuestos .

En las proteínas fibrosas de fantasmas de eritrocitos , se encuentran grupos hidrofóbicos e hidrofílicos ; los grupos hidrofóbicos fijan los lípidos y los hidrofílicos las sustancias hidrosolubles , por lo que pueden unir los lípidos al citoplasma acuoso .

Otra prueba más de la existencia de las proteínas en la membrana celular fué aportada por E. Ponder , en 1954 , quien observó la lisis de la membrana celular por agentes proteolíticos .

Por otra parte , las determinaciones de proteína en suspensiones de membranas plasmáticas , muestran que hay suficiente proteína para formar una capa bimolecular . Estas proteínas de la superficie sufren extensiones y compresiones comunicándole a la membrana celular su elasticidad característica .

Por medio de estos estudios pudo establecerse que la membrana celular era una superficie definida , a la cual pueden atribuirse muchas de las propiedades de la célula pero sus constituyentes precisos , así como la relación entre la estructura y su función permanecieron en la especulación , hasta que el microscopio electrónico aportó sorprendentes evidencias acerca de la ultraestructura de la membrana .

Los trabajos de Schmitt F.O. , Bear R.S. y Ponder E. , realizados en 1936 , explicaban que la membrana estaba probablemente formada por capas paralelas de proteínas , separadas por una doble capa de lípidos .

En cuanto a la permeabilidad y presión osmótica de la membrana , así

como la existencia de una gran cantidad de lípidos en la membrana celular fueron conocidos gracias a los estudios hechos con el microscopio polarizado , y al análisis de fantasmas de eritrocitos , realizados por Parpart y Dziemian , en 1940 , y desde entonces se han propuesto muchos esquemas para explicar estas propiedades fisiológicas .

En el lapso de 1952-1954 , fueron propuestos diferentes esquemas para la membrana celular por Danielli . El primero supone la penetración de los iones vinculada con el repliegue y despliegue de las moléculas de proteína , -- las cuales al replegarse acarrearían los iones al interior de la célula .(4),(5)

Con la introducción de las técnicas de cortes finos para el microscopio electrónico y gracias a las investigaciones de J.D. Robertson , entre 1959-1964 , se reconoció que se presenta universalmente una estructura similar en la superficie de las células vegetales , animales y protozoarios , a las que después de fijadas con tetraóxido de osmio , aparecen con una estructura formada por dos líneas oscuras paralelas , y separadas por un espacio claro . Estas tres líneas constituirían una estructura a la que él llamó "membrana unitaria" , concluyendo que las líneas oscuras representan los extremos polares de las moléculas de fosfolípidos junto con las moléculas de proteína asociadas .

Las dimensiones observadas y la disposición están de acuerdo con el modelo de "emparedado" de Danielli . (14)

Un nuevo modelo que muestra la organización fundamental de la membrana , ha sido propuesto por S. Jonathan Singer , en 1972 , denominado "modelo de mosaico fluido" , y cuya esencia es que las membranas son soluciones bidimensionales de lípidos y proteínas . La mayoría de los lípidos están formando una bicapa , y constituyen el solvente para las proteínas de la membrana , y son también una barrera permeable . Otra pequeña fracción de los lípidos interactúa específicamente con las proteínas , siendo esenciales para su función .

Las proteínas de la membrana están libres para difundir lateralmente la matriz lipídica . Sin embargo algunas proteínas no tienen movimiento lateral libre a lo largo de la membrana celular , se ha encontrado por ejemplo , -- que ciertas proteínas de la superficie exterior de la membrana se aglomeran mediante un entrecruzamiento , uniéndose con fibras de proteína adheridas al interior de la célula , desplazándose , se intercalan entre ellas .

Tales eventos inducidos experimentalmente, pueden ocurrir cuando moléculas como las hormonas se unen específicamente a receptores de la superficie celular. Su poniéndose que estos receptores están unidos a proteínas en el interior de la célula, y así flotando después se acumulan en el sitio apropiado sobre la superficie.

Ultimamente se han hecho grandes avances en este campo, gracias a las técnicas de tinción fluorescente, blanqueo por medio de láser, el estudio de modelos químicos, y el más tradicional la reconstrucción de sistemas enzimáticos.

Una manera de visualizar las moléculas en las membranas celulares, es marcarlas con anticuerpos específicos que han sido marcados a su vez con colorantes fluorescentes. Otra técnica muy útil en el estudio de membranas, ocupa el blanqueo mediante láser, de moléculas teñidas que se asocian a estas estructuras. Con un potente rayo láser, una pequeña región de la membrana se blanquea y puede ser visualizada, el rayo de luz elimina la absorbancia o fluorescencia del colorante, entonces se puede medir el flujo de moléculas dentro de la zona blanqueada. Las constantes de difusión indican, el grado de movilidad de las moléculas entre las proteínas de la membrana, las cuales pueden confrontarse contra las de lípidos de composición variada.

Las membranas celulares son asimétricas a través de sus planos, — así por ejemplo, las enzimas se pueden distribuir a uno y otro lado de la superficie de la membrana o bien se aglomeran en la superficie de ambos lados de la membrana. También los lípidos pueden distribuirse en forma asimétrica, con más de un tipo que de otro en una de las capas que constituyen la membrana celular. (Fox, L. Jeffrey, Chemical & Engineering News, April 17, (1978) pag. 16-17)

Nucleolo

La presencia de uno o más granulos densos y bien definidos dentro del núcleo fué advertida por primera vez por Fontana en 1781.

Posteriormente, en 1838, Schleiden y Schwann, supusieron que los nucleolos se originaban espontáneamente de un blastema amorfo y se desarrollaban en núcleos o citoblastemas, los cuales a su vez se transformaban en células. (14)

Hacia fines del siglo XIX , en 1898 , cuando cayó en desuso la teoría de los citoblastos , Montgomery y otros citólogos advirtieron una relación entre la presencia y el tamaño de los nucleolos y la actividad relativa de distintas células en síntesis proteica . (14)

Se estableció que los nucleolos no se observan por lo general , en células espermáticas , células que comienzan la división , fibras musculares , leucositos , y muchas células durante la mitosis , correspondiendo en cada caso a un tejido que presenta poca o ninguna síntesis proteica , en cambio son abundantes en neuronas , células secretoras , y estados embrionarios .

En 1940 , Jean Brachet , detecta la presencia del RNA , en los nucleolos , mediante citquímica , más tarde W.S. Vincent , en 1952 , llevó a cabo un detallado análisis bioquímico de estos , aislandolos de oocitos de estrella de mar , hallando que sus preparaciones constaban principalmente de proteínas ricas en ácido glutámico y pobres en aminoácidos básicos , conteniendo fosfatos fuertemente enlazados , y unicamente el 5% de la masa de oocitos era de RNA .

Los numerosos estudios de la estructura del nucleolo están de acuerdo con que estos organelos son los sitios de síntesis y montaje de los ribosomas . En 1954 , E.D.P. De Robertis , poco después de la introducción del microtomo a la microscopia electrónica , observó masas de partículas densas a ambos lados de la envoltura nuclear en neuronas de rana y de lombriz de tierra , que le llevaron a sugerir un origen nuclear para las partículas descubiertas (ribosomas) .

En un estudio similar , en 1956, E. Anderson y H.W. Beams , encontraron que los nucleolos constan de gránulos que miden 200 \AA , íntimamente empaquetados , y que se parecen a los gránulos del citoplasma . Observaron también continuidades aparentes entre el material nuclear y el citoplasmático a través de las aberturas en el material nuclear .

Según resumieron en 1963 , V. Marinozzi y W. Bernhard , muchos nucleolos contienen dos partes distintas : una región densa con gránulos como ribosomas , y otra de elementos fibrilares . El RNA , se encuentra en ambas partes y muchos datos están de acuerdo con la idea de que el RNA fibrilar es un precursor inmediato del RNA granular .

El primer método adecuado para el aislamiento de nucleolos , surgió de los estudios de W.S. Vincent , sobre el nucleolo de oocitos de estrella de mar , que por su gran cantidad y masa facilitan la operación . (16)

El primer aislamiento a partir de células de mamífero fué hecho - por K.J. Monty , fraccionando la célula y su núcleo mediante sonicación , encontrando únicamente un 1.3% de la concentración inicial del RNA , despues de precipitar el tejido en una solución de goma arábica , por más de 18 horas ; - pensando que la pérdida del RNA era por hidrólisis o por difusión .

Sin embargo se encontro una concentración mayor de DNA (17.6%) en el nucleolo aislado , lo que estaba en desacuerdo con los histólogos , quienes habían encontrado que el nucleolo era rico en RNA . Por lo que se hizo necesario modificar el método , tiempo despues Maggio , lo mejoro introduciendo al medio iones Ca y enfriando el recipiente . (18)

Despues de haber fracasado con el núcleo de hígado de rata , Maggio y colaboradores ., obtuvieron una preparación nucleolar buena , a partir de - núcleo de hígado de puerco de Guinea (cuyo) . Una nueva modificación al método les permitió a varios laboratorios , aislar el nucleolo de tejidos tumorales y normales .

Mitocondria

No se puede nombrar a alguien en particular como el descubridor de - la mitocondria puesto que muchos citólogos , entre 1840-1890 , habían observado estas estructuras tanto en células vivas como en material fijo , sin que se hallan percatado de su importancia en la fisiología celular , describiendoles simplemente como componentes granulosos o filamentos del citoplasma . (43)

Entre estos primeros investigadores se encuentran ; A. Von Kölliker, E. Strasburger , L. Von Brunn, R. Zoja, J. Arnold , W. Fleming y uno de los - más prominentes R. Altmann .

De hecho , 10 años antes , Kölliker , ya había separado mitocondrias de músculo de insectos , observando que los gránulos poseían una membrana , y - se inchaban al colocarlos en agua . En 1890 , Altmann , las describió como partículas en forma de bastoncillos , encontrando que estas partículas a las que - llamó "bioblastos" , se teñían en forma selectiva con fucsina ácida .

Sugirió que por su naturaleza eran formas elementales de vida , que existen en todas las clases de células , y como las bacterias a las que se parecen , eran capaces de tener una vida independiente .

Sin embargo su descubrimiento se reconoce a C. Benda , quien en 1899 , la dio a conocer y acuñó el término de "fadenkorner" o "mitochondrien" , de *μίτος* (hilo) y *κόμμηρος* (gránulo) , así también había observado la acción colorante de la alizarina y el cristal violeta sobre las mitocondrias .

Un año después (1900) , L. Michaelis , encuentra que las mitocondrias en células pancreáticas de ratón , pueden ser teñidas en forma selectiva y supravital por soluciones diluidas de verde jano , con lo cual las mitocondrias toman una coloración azul verdosa . Esta coloración se debe al sistema citocromooxidasa presente en las mitocondrias , que mantiene al colorante en su forma oxidada (colorida) , en cambio , en el citoplasma , el colorante es reducido a su leucobase incolora . Lo cual tiene gran importancia pues permitió llegar a la tentativa de que las reacciones de oxidoreducción en la célula podían deberse a la mitocondria .

No todos los citólogos aceptaron de inmediato el nombre de mitocondria y emplearon otros como : cuerpos parabasales , plasmosomas , fila , etc.

En este siglo , cuando se dispuso del microscopio de contrastación de fases , se pudo ver con facilidad las mitocondrias , mostrando que se mueven constantemente .

En lo que a su función se refiere , existió durante muchos años , una gran confusión . Sin embargo en 1908 , F. Hevesy , y C. Regaud en 1909 , introducen las teorías del "portador del dens" y la del "electrosoma" , respectivamente . En 1912 , B.F. Kingsburg elaboró la del centro respiratorio , y más tarde Otto Warburg , demostró que el consumo de oxígeno por los extractos de hígado , se relacionaba con las mitocondrias , estableciendo así la relación entre estos gránulos y la respiración celular .

En la década de 1920 , J.E. Wallin , concibió a las mitocondrias como bacterias , que habían entrado como simbiosis a las células animales .

Después en 1926 , T.B. Robertson y H.R. Morston , introducen la teoría de la mitocondria como el sitio de la síntesis de proteínas . Últimamente se ha encontrado que las mitocondrias contienen DNA y RNA , semejantes a los de bacterias , considerándose que el DNA mitocondrial proporciona la información

para la síntesis de muchas de las proteínas mitocondriales .

La confusión permaneció hasta 1930 , en que los avances tecnológicos permitieron fragmentar la célula y separar sus componentes , mediante el empleo de la centrifugación diferencial , introducida por Albet Claude .(10)

Este mismo año , R.R. Bensley de la universidad de Chicago , empleó esta técnica con los gránulos citoplasmáticos , intentando aislarlos , abriendo así el camino para los estudios de la mitocondria . En 1934 , con la colaboración de N.L. Hoerr , consiguió aislar por primera vez fracciones que contenían mitocondrias , mediante la homogenización de tejidos de hígado de puerco de Guinea , en una solución fisiológica salina , seguida de centrifugación a una velocidad de 2000 rpm , a partir de este momento se hizo posible el estudio directo de la mitocondria por métodos bioquímicos . (19)

Fué en 1940, que Albert Claude , en el instituto Rockefeller de New York , inició los estudios sobre la estructura y composición de la mitocondria y microsomas . Sus trabajos le permitieron reconocer a estos gránulos como la "central energética de la célula" , mediante la demostración de que el citocromo c , se localiza en fracciones mitocondriales . En 1948 , logra aislar la mitocondria intacta con el empleo de la centrifugación diferencial en un medio de sacarosa 0.88 M .

Simultáneamente , en el mismo instituto , G.H. Hogaboom , W.Schneider , y G.E. Palade , lograron aislar la mitocondria empleando un medio de sacarosa permitiendo con ello la demostración de la función de este organelo en la respiración celular . Sólo entonces fué posible llegar a conclusiones reales , y es así como Kennedy y A.L. Lehninger , en el mismo instituto , demostraron con mitocondrias aisladas del hígado de rata , eran capaces de efectuar todas las etapas de oxidación del ciclo de Krebs . (46)

Demostraron que se trataba de oxidaciones fosforilantes , es decir venían acompañadas de la producción de ATP .

Hacia la mitad de este siglo , con los progresos del microscopio electrónico y los trabajos de G. E. Palade y G. Porter , en el instituto Rockefeller y Sjonstrand en Suecia , permitieron obtener las primeras imágenes de gran resolución y describir con precisión la estructura de la mitocondria . Describiéndolas como una asociación de dos membranas , una externa y una interna, siendo la interna la que presentaba repliegues o crestas mitocondriales , en

las que se efectuaba la cadena respiratoria , entre ambas membranas se localiza un fluido al que llamó "matriz mitocondrial" .

El auge en el estudio de la estructura de la mitocondria ,llevó a la caracterización de las membranas mitocondriales , encontrándose la presencia de varias enzimas en las crestas de la membrana interna , las cuales al ser aisladas y reconocidas , permitieron asociar las vías metabólicas del ciclo de — Krebs , la oxidación de los ácidos grasos , y la cadena respiratoria a este organelo celular . (19)

La compartimentación de las enzimas y de los sustratos es una de las características de la estructura mitocondrial , de ahí el interés por aislar — los compuestos enzimáticos de los ciclos oxidativos ,por estudiar su estructura molecular , su actividad , y por determinar su localización exacta , con el fin de comprender mejor las relaciones que existen entre los diversos sistemas multi-enzimáticos mitocondriales. (46)

Ha sido posible trazar el plano probable de la distribución de las enzimas y de los principales componentes mitocondriales . Para esto se han empleado extracciones mediante soluciones hipertónicas (fosfatos) , que liberan — las enzimas del compartimiento intermembranario . Después el sedimento obtenido de la centrifugación es roto por ultrasonido , obteniéndose las enzimas retenidas en la matriz , en tanto que las enzimas de la membrana interna y las de las crestas requieren técnicas más delicadas , que incluyen el empleo de agentes — lixiviadores y detergentes .

Así se ha visto que las enzimas del ciclo de Krebs están asociadas a la matriz soluble , las de la cadena respiratoria están adheridas a las membranas específicamente a la interna , donde constituyen una importantísima fracción (más del 25% de las proteínas de las membranas mitocondriales). Están agrupadas con moléculas transportadoras de electrones en un "conjunto respiratorio" , el que lleva un elemento de cada uno de los transportadores de electrones , así como una molécula de la enzima acoplante que sintetiza el ATP . Estos conjuntos están situados en la membrana interna a intervalos regulares .

Una de las preocupaciones actuales de los investigadores es la reconstrucción in vitro de este complejo multi-enzimático a partir de elementos — aislados y purificados . En tal sistema , las membranas no sólo constituyen un soporte para las enzimas , sino también son necesarias para su funcionamiento .

Cloroplasto

El botánico alemán Julius Von Sachs , quien se interesó en la nutrición vegetal y el papel que desempeña la clorofila dentro de esta , publicó en 1865 , un tratado botánico en donde muestra que este pigmento se encuentra confinado en pequeños cuerpos en el interior de la célula , y no como se creía que la clorofila se encontraba distribuida en toda la planta dándole su color verde.

Mostrando que es en estos pequeños cuerpos , los que después se llamaron "cloroplastos" , en los que se sintetiza el pigmento que cataliza el proceso fotosintético en presencia de luz , dependiendo también la absorción del CO_2 de este factor . (15)

Posteriormente , en 1883 , A. Mayer , describe por primera vez con detalle la estructura de los cloroplastos , mostrando que están formados por cilindros densos a los que llamó "grana" , rodeados por un material más claro , - el "estroma" .

En 1884 , Englemann , demostró la absorción de la luz y el desprendimiento de oxígeno en el interior del cloroplasto , mediante el empleo del alga spirogyra , con su gran cloroplasto , y la bacteria pseudomonas , probó que - bajo iluminación la bacteria se trasladaba al sitio de formación del oxígeno en el cloroplasto . (6)

Por último Sachs , en 1894 , señaló la aparición del almidón en el interior del cloroplasto , después de la absorción de CO_2 .

A principios del siglo XX , con el empleo del microscopio electrónico , se supo que hay de 40 a 80 grana en un cloroplasto , compuestos por capas de membranas apareadas formando sáculos o discos llamados "tilacoides" . Cada grana se compone de 5 a 30 discos , las membranas del tilacoide tienen incluido un conjunto paracrystalino de pequeñas partículas o "cuantosomas" , constituidos por partes iguales de proteínas y lípidos de los cuales la clorofila representa una parte importante . (15)

En 1954 , con los experimentos de D.I. Arnon y colaboradores , se conoció que las enzimas que fijan el CO_2 se localizan en el cloroplasto . (6)

Aparato de Golgi

Hacia fines del siglo XIX , en 1898 , el neurólogo italiano -- Camilo Golgi , trabajando con su método de "impregnación metálica" (el que se

Mala la sumersión prolongada de las células en tetraóxido de osmio), y que más tarde modifico empleando sales de plata . Examinó algunos cortes de tejido cerebral de lechuga , que habían sido fijados en una solución de dicromato y a continuación impregnados con solución de plata , descubrió en el citoplasma de estas células , ciertas estructuras desconocidas . que parecían estar formadas — por diminutas placas y filamentos distribuidos a manera de una redcilla , por lo que les llamó "aparato reticular interno" . (38)

Varios años antes , el histólogo español , Santiago Ramón y Cajal había visto estos mismos cuerpos , pero no los reportó pues el método de Golgi — era difícil de controlar y no daba resultados uniformes . , además no se habían identificado estas estructuras en células vivas .

Aún que este descubrimiento era importante , durante mucho tiempo — se dudo de su existencia , debido a las limitaciones del microscopio óptico , surgiendo controversias entre quienes pensaban que era una estructura real , y los que lo consideraban como un truco de las técnicas de fijación y tinción . La confusión continuo hasta después de 1950 , cuando el microscopio electrónico demostró su existencia en todas las células (con excepción de los glóbulos rojos) , y que consta de pilas de pequeños sacos aplanados , cada uno rodeado — por una membrana de superficie lisa , en este sistema de membranas era donde se depositaba el osmio o la plata . Los estudios subsiguientes en otras clases de — células confirmaron su existencia , pero no que formara una redcilla , por tanto se le conocía sólo como "aparato de Golgi" en honor a su descubridor .

Poco después de su descubrimiento se inició el estudio de su función en los procesos celulares , comenzando Santiago Ramón y Cajal , quien estudiando células intestinales (células de ceps) , en 1914 , observó pequeñas gotitas de mucus en la zona del aparato de Golgi , por lo que supuso que este sistema — de sáculos sintetizaba el mucus . (37)

En la década de 1920-30 . Bowen y Hirsch , concluyeron que este organelo debía funcionar como sitio activo de agregación y condensación para los productos de secreción elaborados en otros sitios de la célula .

Mucho más tarde . en 1961 , Leblond C.P. y otros investigadores , — estudiaron el papel del aparato de Golgi en la formación de las secreciones proteicas , realizando experimentos sobre células de páncreas y empleando aminoácidos radioactivos y el método de autoradiografía , encontrando que las proteínas

sintetizadas , migraban al aparato de Golgi en donde aparecían dentro de pequeños glóbulos y finalmente eran liberadas como una secreción pancreática .

Finalmente en 1967, despues de que Erwin H. Eylar , señalara que la mayoría de las proteínas secretadas son glucoproteínas , se pensó en la posibilidad de que en el aparato de Golgi se efectuara la unión entre las proteínas y los azúcares para formar la secreción . Lo que fué confirmado por los bioquímicos británicos , P. Draper y Paul Kent , con la ayuda de la glucosa marcada como trazador y mediante autoradiografías que permitian ver el trayecto de la glucosa dentro de las células del intestino grueso de ratas . Encontrando que una vez desdoblada la glucosa en otros azúcares , se unía a la proteína en esta estructura , para formar la secreción , la cual era liberada en la superficie de las células del intestino , cuando los glóbulos estallaban . (37)

Lisosoma

Su descubrimiento se hizo en 1949 , como una consecuencia de los intentos de Cristian De Duve por establecer el mecanismo de acción de la insulina . Se interesó en la enzima glucosa-6- fosfatasa , pensando que esta podía inhibir la acción de la insulina , al actuar como represor de la hexoquinasa . (19)

Trabajando con homogenados de hígado de rata , encontró que esta enzima se precipitaba a un pH de 5 , pero no lograba redisolverse a un pH mayor . Recordando que Albert Claude , le había mostrado unas estructuras celulares como gránulos , que precipitaban también a un pH de 5 , con lo cual pensó en la posibilidad de que esta enzima pudiera estar asociada a alguna estructura celular .

Mediante el empleo de la centrifugación diferencial y artificios como el experimento de la mayonesa , que había aprendido de A. Claude , pudo precipitar la enzima en un 95% , conservando la mayoría de la actividad , sin embargo al emplear la centrifugación , se encontró que en preparaciones recientes con el paso del tiempo la actividad desaparecía en las fracción mitocondrial para aparecer en el sobrenadante .

Esto hecho fué de gran importancia ,pues le permitió a C. De Duve , en unos meses más tarde reconocer que la latencia se debía a que la enzima se encontraba dentro de una membrana , en una estructura como saco , posteriormente se encontró que su contenido era un conjunto de hidrolasas y se le dió el --

nombre de "lisosoma" .

Tiempo despues , De Duve pudo confirmar la existencia de los lisosomas por medio de una micrografia electronica de una preparacion que A.B. Novikoff habia obtenido de De Duve .

La densidad y dimensiones de los gránulos ha sido determinada por medio de los estudios del comportamiento de las enzimas en diferentes condiciones de centrifugación , en tanto que la consideración de la latencia enzimática ha permitido reconocer que los gránulos se encuentran confinados dentro de una membrana y también se ha llegado al conocimiento de las características físicas y químicas de dicha membrana . (19)

Microsomas y retículo endoplásmico

En 1939, A. Claude , quien estaba interesado en aislar y caracterizar los componentes celulares , tomó fracciones de extractos de hígado de Amphiuma , y tras someterlos a centrifugación a 20,000 g. por una o dos horas , mezclar , separar , y finalmente teñir , pudo observar al microscopio la separación de los componentes de la célula . Apareciendo el núcleo y la mitocondria , y sobre estos una zona fuertemente basofílica, formada por partículas submicroscópicas a las que llamó "microsomas" , y que aparentemente parecían ser un componente invariable de la célula . Aún que algunos científicos los consideraron como partículas de polvo o bien que se trataba de inmunoglobulinas . (19)

En 1940 , Claude , fundó la escuela de citología en el instituto Rockefeller en New York , iniciando el estudio de la estructura y composición del microsoma y la mitocondria .

La relación de los microsomas con otras estructuras celulares fue encontrada hasta 1945 , cuando K.R. Porter , A.Claude , y E.F.Fullan , desarrollaron cultivos de células cuyo citoplasma se extendía de una manera tan delgada que era posible examinarlas al microscopio electrónico . En ellas observaron además de la mitocondria , una redcilla con aspecto de encaje , que se extendía del centro a los bordes de la célula , y dispersos en el citoplasma se encontraban cuerpos como vesículas de 100 a 150 milimicras , responsables de la basofilia que se observaba . Por lo que se supo que existían dos clases de retículo endoplásmico ; el liso y el rugoso , siendo este último el que posee los -

microsomias .

Empleando un microscopio de mayor poder de resolución , Claude , — Porter , y E.G. Pickels , lograron en 1947 , una micrografía bien definida de la red citoplasmática , a la que Porter , le dió el nombre de "retículo endoplásmico" , puesto que en cultivos de células esta red es más rica en el endoplasma .

Intentaron explicar el origen de los microsomas por medio de la transformación de fragmentos del retículo en vesículas que forman los microsomas y cuya estructura fué descrita en forma precisa por George E. Palade , señalando que estos gránulos eran ricos en ácidos nucleicos .

Debido a su basofilia , R.B. Roberts , les denominó "ribosomas" .

Cuando se pudo obtener cortes finos de tejidos con la ayuda del microtomo , y observarlos al microscopio electrónico , se observó con claridad — que el retículo endoplásmico consiste de estructuras membranosas huecas , como tubulos o vesículas .

Mediante los trabajos de Palade y colaboradores , especialmente P. Siekevitz , fué resuelta la ultraestructura y la bioquímica del retículo endoplásmico , basándose para ello en el análisis bioquímico y morfológico de fracciones microsomiales y sobre hepatositos de los cuales se obtuvieron las fracciones .

Otros microcuerpos

Después del descubrimiento del lisosoma y de las hidrolasas ácidas , Alex B. Novikoff y colaboradores , observaron que una enzima digestiva (la ureato oxidasa) , de las células del hígado de rata se sedimentaba en forma similar a las hidrolasas . Por su parte De Duve , observó que no presentaba la solubilidad , ni la latencia propia de las enzimas del lisosoma , sospechándose que esta enzima podía estar asociada a otra estructura celular , lo que fué — confirmado por Robert Wattiaux , mediante el empleo del detergente triton WR-1339 , que disminuye selectivamente la densidad de los lisosomas , notando — que no se producía ningún cambio en la densidad de las partículas que contienen la ureato oxidasa , en un gradiente de densidad de sucrosa . (9)

Un año después , en 1954 , Johannes A.G. Rohodin , en el Instituto Karolinska , estudiando las células de riñon del ratón , al microscopio electroy

nico , descubrió unos nuevos organelos celulares a los que llamó "microcuerpos".

En seguida Pierre Baudhuin y Henri Beaufay , encontraron que las enzimas catalasa (la cual degrada el peróxido de hidrógeno) , y la D- aminoácido oxidasa , parecían estar asociadas con los nuevos organelos . La asociación de oxidasas y catalasas permitía la oxidación de una gran variedad de sustratos , reduciendo el oxígeno a H_2O_2 , el cual era reducido por la catalasa a H_2O , a manera de una cadena respiratoria mucho más simple . Por lo cual en 1965 , De Duve llamó "peroxisomas" a estos nuevos organelos .

Por otra parte , tiempo después de que H. Krebs , había formulado - el ciclo del ácido cítrico , uno de sus discípulos Hans L. Kornberg , descubre en 1957 , el "ciclo del glioxilato" , una variante del ciclo de Krebs , que liga la degradación de los ácidos grasos a la gluconeogénesis , proporcionando así - carbohidratos a las semillas oleaginosas durante la germinación . El descubrimiento del ciclo motivo nuevas investigaciones , por parte de Harry Beevers y Rowland W. Breidenbach , quienes encontraron que las enzimas que intervienen en este ciclo , se localizan en una especie de partículas citoplasmáticas , las que fueron aisladas mediante centrifugación diferencial en un medio de sucrosa , y cuyas características correspondían a los microcuerpos y peroxisomas y para distinguirlos Beevers , en base a su función bioquímica , les llamó "glioxisomas" , cuyo descubrimiento fué dado a conocer en 1957 .

Por medio de estudios posteriores sobre estos organelos , se intentó establecer su origen . Habiéndose encontrado que los peroxisomas se encuentran ampliamente localizados en las células eucariotes y debido a su función , se pensó que podían constituir una rudimentaria vía metabólica , pudiendo ser - los antecesores de la mitocondria , en las células primitivas . Lo que llevó a Miklós Müller a estudiar organismos simples como los protozoarios , ya que careciendo de mitocondrias , sólo presentan microcuerpos . Así junto con Donald G. Lindmark , comenzó el aislamiento y caracterización de los organelos celulares - en las Tricomonas , obteniendo en forma indirecta otros organelos capaces de oxidar el piruvato hasta acetato , acompañada de la formación de ATP . Durante la oxidación los electrones son donados al oxígeno y en condiciones anaerobicas - son transferidos a los protones para formar hidrógeno , de aquí deriva su nombre de "hidrogenosomas" .

LA BIOQUIMICA MODERNA

Fundamentos históricos

Después de la revolución química, las explicaciones de Párcelso, sobre los fenómenos biológicos, fueron substituidas por reacciones químicas, y aún que el descubrimiento de la circulación de la sangre por William Harvey, había aclarado muchos aspectos de la fisiología, dichos mecanismos — químico-fisiológicos permanecieron vagos hasta el final del siglo XVIII, que con la consolidación de la química orgánica se favoreció la proliferación de descubrimientos bioquímicos en los inicios del siglo XIX, como resultado de las investigaciones de Priestley, Ingenhousz, Senebier, sobre la fotosíntesis y los estudios de Lavoisier, Laplace, y Seguin, sobre la respiración.

La bioquímica alcanza su auge a finales del siglo XIX, varios hechos de naturaleza filosófica, científica y social ayudaron a su advenimiento como una ciencia independiente. Así vemos que a fines del siglo XVIII, como una consecuencia de la revolución industrial, la escasez de alimento constituyó un gran problema en Inglaterra, permaneciendo esta situación hasta principios del siglo XIX, en casi toda Europa. Al haber menos hombres disponibles en el campo y un aumento constante de población en las ciudades, requiriéndose una mayor aportación de la ciencia a la industria y a la agricultura.

Tales necesidades agrícolas, industriales y médicas, favorecieron el desarrollo de nuevas tendencias, las cuales daban igual importancia al estudio químico y al fisiológico y de este modo surgió una nueva disciplina; la "química fisiológica", cuyo campo es la mezcla de ambos aspectos. (44)

Estas fueron las causas sociales de la obra de Liebig y Pasteur sobre la fermentación, cuyos móviles mecánicovitalistas, originaron un desacuerdo entre ambos científicos, ayudando con ello a la transformación de la química fisiológica en bioquímica.

Se habían preparado una gran cantidad de principios proximales y se había determinado su fórmula empírica, se demostró que las transformaciones que sufren los compuestos orgánicos naturales se rigen por las mismas leyes que los compuestos inorgánicos, adquiriendo la química tal importancia en el desarrollo de la bioquímica que algunos fisiólogos intentaron descubrir la naturaleza de los fenómenos de la vida, por medio de experimentos químicos *in vitro*.

en tanto que otros consideraban a la materia viva regida exclusivamente por los principios vitales .

En este tiempo la falta de congruencia entre la química orgánica y la inorgánica dió lugar a la separación de ambas ramas de la química .

Trás una gran controversia sobre la fermentación alcohólica entre los químicos mecanistas influenciados por Liebig , quienes consideraban a los fermentos como substancias químicas sin ninguna relación con la vida , y los vitalistas , representados por Louis Pasteur , quien en base a sus experimentos pudo proponer a la fermentación como un fenómeno inherente a la vida de la célula , se elabora una clasificación de los fermentos en : organizados o intracelulares y los no organizados o extracelulares, distinción que se hizo más evidente cuando en 1876 , William Kühne , dio a los fermentos organizados el nombre de enzimas (dentro de la levadura) . (31)

Estudios sobre la nutrición

A mediados del siglo XIX , los químicos, unen sus esfuerzos a las investigaciones biológicas ; se elaboran los conceptos fundamentales para la nutrición , además se marca el desarrollo del conocimiento de los mecanismos de la digestión , cuya naturaleza se encontraba indefinida entre la química y la biología .

Los primeros trabajos sobre la nutrición y la digestión se inician con William Stark , entre 1740-1770 , quien señaló la importancia de una dieta variada , después de haber ingerido durante dos meses pan y agua .(31)

En 1811 se poseían algunos conocimientos sobre la nutrición , gracias a la cooperación de la química con la fisiología , encontrándose en pleno desarrollo la investigación sobre los carbohidratos , en el mismo año Gay Lussac y Thernard , determinaron por primera vez la composición elemental del azúcar de caña, en forma casi simultanea Berthollet logró importantes avances en el análisis de las proteínas , determinando la cantidad de amoníaco obtenido por la destilación de la carne y el queso .

A fines del siglo XVIII y principios del siglo XIX , la escasez de alimento hizo necesario encontrar nuevas fuentes del mismo , por lo que la academia de Paris nombró en 1815 una comisión dirigida por el fisiólogo Francois Magendie , destinada a encontrar sustitutos alimenticios . Así , en 1816 Magen-

die desarrolla un experimento encaminado a descubrir el origen del nitrógeno - constituyente de los animales , alimentando perros con azúcar , aceite de oliva y mantequilla , y al no sobrevivir penso que el nitrógeno esencial para la vida provenía de los alimnetos . (44)

Otro investigador cuyas aportaciones a la química y fisiología de la nutrición fueron de gran importancia , fué el médico ingles William Prout -- (mismo que formuló la teoría de las proporciones multiples) , quien en 1824 , mostró la existencia del ácido clorhídrico en el estómago , pensando que sólo con la presencia del ácido se producía la digestión . En el otro extremo L. Gmelin y F. Tiedemann . se oponían a ello , señalando que la digestión es un proceso biológico , que sólo el estómago puede efectuar merced a sus fuerzas vitales .

W.Prout , en 1827 , postula por primera vez que la alimentación debía constituirse por : carbohidratos , lípidos y proteínas .

En forma casi simultanea se descubrió la naturaleza de los ácidos grasos , por medio de los trabajos de M.E. Chevreul , y hacia fines del siglo - XIX , Emil Fisher , realizó importantes avances sobre los carbohidratos y las proteínas . (31)

De la falta de una correcta concordancia entre la química y la fisiología , surgió la necesidad entre mecanistas y vitalistas de encontrar fundamentos experimentales a sus teorías lo que trajo consigo un gran número de descubrimientos (44) . Así en 1831 , Eberle , tratando la mucosa gástrica con ácido clorhídrico , obtuvo un extracto que presentaba actividad digestiva , mostrando que aún fuera del estómago el jugo gástrico es capaz de digerir alimento . A este descubrimiento le sigue el de Th. Schwann , quien en 1835 , encontró en el jugo gástrico una substancia con actividad digestiva a la que llamó "pepsina" , en el mismo año , dio a conocer sus trabajos sobre la fermentación , presentando como su posible causa al desarrollo de la levadura durante el proceso y sugiere que los cambios metabólicos efectuados en la célula de levadura son representativos de toda célula .

En 1839 ; Schwann , enuncia la teoría celular , en la cual emplea por primera vez el termino de metabolismo . (44)

La existencia de otros agentes que intervienen en la digestión fué confirmada por Claude Bernard , en 1846 , en base a las observaciones del poder

digestivo del jugo pancreático sobre el almidón , consiguió demostrar que además es capaz de escindir grasas y proteínas . Su trabajo fué ampliado por su discípulo W. Kühne , centrando sus estudios en la acción del jugo pancreático sobre las proteínas , y en 1876 logra aislar la tripsina . (31)

En tanto el estudio de la fermentación alcanzaba un gran desarrollo, los estudios celulares quedaron un poco relegados , ante la oposición de Berzelius y Liebig , a considerar a la fermentación como un proceso biológico , siendo imposible correlacionarla con los cambios químicos que se efectúan en la célula . (44)

Una vez determinada la naturaleza de los alimentos , el siguiente paso era el predecir lo que sucede después de ser ingeridos por los organismos. Los primeros balances entre la ingestión y la excreción de los componentes de los alimentos se realizaron en animales domésticos , por Jean Baptiste Dieudonné Boussingault , estos estudios tuvieron gran éxito .

Posteriormente Claude Bernard , intentó con este mismo método , demostrar que los animales son capaces de sintetizar sus nutrientes , de esta forma encontró la función glucogénica del hígado y de este mismo órgano logró aislar el glucógeno en 1857 . (31)

El estudio de la nutrición se vio enriquecido , cuando los fisiólogos alemanes Victor Henry Reynault y Julius Reiset , le dieron un enfoque energético , relacionando la alimentación con el intercambio gaseoso en los animales .

Por otra parte , tanto la química como la fisiología continuaron unidas e iban evolucionando juntas , hasta que alrededor de 1870 , se reconcilian la química orgánica y la inorgánica . Dedicándose la primera al estudio de los compuestos del carbono , cediendo a la fisiología lo relacionado con los procesos químicos realizados en plantas y animales . (44)

De este modo , la fisiología alcanza su desarrollo como una ciencia independiente , centrando su interés en el estudio del sistema nervioso y el funcionamiento del cuerpo humano , dándole gran importancia a la individualidad de cada órgano y estableciendo un sistema bioquímico común a todas las células.

Química fisiológica

En 1877 - 78 , Felix Hoppe- Seyler , fundó la Zeitschrift --

für Physiologische Chemie , la primera revista sobre química fisiológica , introduciendo un cambio de enfoque en la química orgánica , siendo ahora de gran importancia la naturaleza y propiedades físicas de las sustancias constitutivas de los seres vivos . Este hecho abrió el camino hacia la transformación de lo que posteriormente sería la bioquímica moderna .

Hacia fines del siglo XIX , los límites entre la química y la fisiología se desvanecieron y esta se convirtió en la bioquímica (la química de la vida) , la que entre 1870 y 1880 se separó paulativamente del ámbito de la fisiología . (31)

Con la identificación de los intermediarios de la fermentación alcohólica , cobró auge la nueva ciencia que fué adoptada generalmente bajo las denominaciones de Química Biológica o Bioquímica , enriqueciéndose con numerosos descubrimientos fisiológicos que permanecieron aislados hasta principios del siglo XX , cuando su integración en un solo conjunto mostró la importancia de las reacciones químicas que se efectúan en la célula .

Tiempo después , en 1881 , Nikolai Ivanovich Lunin , mostró que no era suficiente una dieta de proteínas , lípidos y carbohidratos , sino que era necesaria la adición de otras sustancias como la leche , para la supervivencia de los animales de laboratorio , llegando así a una mejor comprensión de las enfermedades por deficiencias nutricionales , cuya desaparición mediante un suplemento alimenticio ya se conocía . (31)

De esta forma y gracias a los trabajos iniciados por Lunin (1881) , - en Suiza , Eijkman (1890) en Java , y especialmente Hopkins (1912) en Inglaterra se encontró durante el primer cuarto del siglo XX , la existencia de otras sustancias que apesar de su presencia en pequeñas cantidades en los alimentos , son esenciales para la salud , ya que la ausencia de una de ellas da origen a una enfermedad .

Debido a su carácter vital y a su naturaleza orgánica de aminas , se les llamo "vitaminas" (base aminada indispensable para la vida) .

BIOENERGETICA

Antes de que se definieran los conceptos de energía y entropía , ya los filósofos griegos consideraban la existencia de un "calor innato" , en los organismos vivos , y por medio del cual se producían todos los fenómenos del organismo . (19)

Galeno considero al calor como la fuente de todo lo que existe en la tierra , no sólo era el motor de la digestión , sino que también efectuaba la transformación del pneuma en sangre .

Después con Lavoisier , el calor fué conocido como producto de una combustión causada por la respiración . Hoy día se sabe que las reacciones de oxidoreducción son el último eslabon de la cadena energética de la vida , y que es en la célula en donde gran parte de esta energía se convierte a energía de enlaces químicos , en tanto que otra parte se disipa en forma de calor .

Sin embargo , la bioenergética se fué estructurando sobre la base del concepto pseudofísico de fuerzas de la vida , de esta manera figuraban en todas las teorías proto-bioquímicas del siglo XVIII , y que se dividieron en dos tendencias : la "mecanística" de Descartes y la "vitalista" de Paul Joseph Barthez , quien al no poder explicar los fenómenos de la vida por medio de simples fuerzas físicas , reconoció un nuevo principio diferente al cuerpo y el alma , "el principio vital" común a todos los organismos y responsable de todos los fenómenos de la vida .

Todas estas teorías surgieron como una explicación a los cambios de materia y energía que se producen en los organismos vivos .

El principio de la conservación de la energía

Fué desarrollado a mediados del siglo XIX , por el ingeniero francés Sadi Carnot , como una necesidad de establecer un balance en las transformaciones de energía involucradas en los sistemas mecánicos , desarrollados durante la revolución industrial , pero no se le dio a conocer sino hasta 1878 . (19)

En forma independiente Julius Robert Mayer , formuló la indestructibilidad de las fuerzas de la naturaleza , Herman Von Helmholtz , describió que la suma de varias fuerzas es una constante , Joule describió , la interconver-

tibilidad entre el calor y el poder mecánico , finalmente Clausius , mostró que había una equivalencia entre todos estos conceptos . Mayer trató de ligar la fisiología a la física y a la química , intentando cuantificar la cantidad de calor producido al desarrollar un trabajo , mostrando una equivalencia entre ambos , en 1841 , determina el equivalente mecánico del calor , concepto que aunado a las consideraciones de Liebig y los experimentos de Schwann , sobre el movimiento de los músculos , le permitieron comprender la transformación de las fuerzas químicas en fuerzas mecánicas , en el interior del músculo , concluyendo finalmente en 1845 , que el calor producido en un organismo era proporcional a su metabolismo .

Dos años más tarde (1847) , H. Von Helmholtz , expresó el principio de la conservación de la energía mediante una ecuación , demostrándolo en forma matemática .

Alrededor de 1850 , Mayer integrando todos estos nuevos conceptos a la fisiología , dedujo que en los organismos vivos , la energía necesaria para el desarrollo de un trabajo provenía íntegramente de la oxidación del carbono e hidrógeno , durante los procesos metabólicos .

Tras la aparición de los conceptos de la conservación de la energía y del calor como el resultado del metabolismo , surgieron varias teorías sobre las fuentes energéticas de los organismos , propiciadas por Liebig , cuando intentó aplicar a la fisiología el principio de Hess (según el cual , el calor producido durante un proceso químico , es independiente del camino tomado para llegar al estado final) .

Por su parte , Mayer había señalado que el calor no era la única manifestación de la energía producida durante el metabolismo , y en efecto , Max Rubner , había observado que en un animal , la energía producida por el metabolismo de las grasas era empleada para sintetizar una cantidad equivalente de proteína .

Anteriormente , en 1852 , F.H. Bidder y C. Schmidt , habían encontrado que el nitrógeno administrado a los animales en la carne , era recuperado en su mayoría en la orina y desechos . Por ello Carl Von Voit , empezó a evaluar el metabolismo de las proteínas , en base a la cantidad de nitrógeno presente en la orina , pero como no se sabía si el nitrógeno del aire intervenía en el metabolismo , Victor Henry Reynault y Jules Reiset , intentaron relacionar el -

metabolismo de los alimentos con el intercambio gaseoso , introduciendo para ello animales en una campana y haciendo un balance entre el CO_2 producido y el O_2 consumido , obtuvieron una relación a la que más tarde E.F.W. Pflüger , llamo "coeficiente respiratorio" . (31)

Por su parte , Voit , con la ayuda de su asistente Max Pettenkofer , extendió este método a los humanos , determinando la cantidad de CO_2 enhalado y el carbono y nitrógeno excretado durante el metabolismo , mediante la determinación de la cantidad de oxígeno necesario para degradar los nutrientes . Encontrando que dependía del tipo de nutriente por degradar , así por ejemplo la degradación de los carbohidratos requiere menos oxígeno que la de los lípidos . De esta manera la demanda de oxígeno esta regulada por la intensidad del metabolismo .

En 1860 , C.G. Birchhoff y C. Von Voit , en b ase a las cantidades de CO_2 y agua producidas por la degradación de los nutrientes , evaluaron su energía potencial . Cinco años despues M. Berthelot , había determinado su calor de combustión .

Voit junto con Max Rubner , construyeron un calorímetro que les permitió realizar una serie de experimentos , partiendo de la hipótesis de que la actividad muscular se realiza con la energía liberada durante la oxidación directa de los alimentos por el oxígeno de los pulmones , encontrando en 1865 , - que los nutrientes no se oxidan completamente para formar CO_2 y agua , sino que también forman una variedad de compuestos intermedios como la orina , lo cual - representa una pérdida de energía para el organismo . Demostrando además que al mantener un perro en actividad muscular no se producía un aumento en la degradación de las proteínas .

Más tarde , en 1877 , Pflüger , probó que los procesos metabólicos se realizan en el interior de las células , mostrando además que el oxígeno no es el responsable directo del metabolismo , ya que manteniendo un conejo en estado de reposo o de actividad , el consumo de oxígeno era el mismo . (31)

Con la ayuda de un calorímetro más preciso , Rubner en 1883-84 , pudo establecer una equivalencia energética entre las proteínas , carbohidratos y lípidos , enunciando su ley isodinamica , según la cual los tres tipos de nutrientes tenían una capacidad calorifica equivalente , y aún que estaba equivocado , estas determinaciones le llevaron a descubrir que las leyes de la termo -

química también son válidas para los seres vivos , y mas tarde , en 1894 , confirma que los organismos obtienen su energía por medio del metabolismo de los alimentos .

Hasta finel del siglo XIX , se consideró al calor como el origen de todo trabajo , siendo el calor animal el producto del metabolismo , y cuantitativamente igual a la energía química de las moléculas metabolizadas .

Por su parte , T.W.Engelmann y Pflüger , sostenían que el trabajo - mecánico resultaba del calor generado , y que posteriormente se transformaba en otras formas de energía , basandose para ello en la consideración de un ciclo de Carnot dentro del organismo , en el que se interconvertían el calor y el trabajo en un ciclo cerrado . Así también Pflüger , adopto la idea de que el CO_2 se formaba en el interior de las moléculas y producía una explosión , acompañada - de vibraciones y una aumento de temperatura , el que daba origen al trabajo mecánico .

Estas teorías al no concordar con los resultados termodinámicos , - fueron abandonadas pronto .

En los inicios del siglo XIX , se consideró a los organismos como - un sistema cerrado , en tanto hoy se les tiene como sistemas abiertos con transferencia de materia y energía .

En 1923 , M. Randall , introduce a la bioquímica los conceptos de energía libre y entropía desarrollados por Gibbs , los que permitían determinar los cambios totales de energía y su posible transformación en trabajo .

Fué A.J. Kluyver , quien en 1924 , postuló que las reacciones exotérmicas debían estar acopladas a las reacciones endotérmicas surgiendo así el concepto de acoplamiento energético , que se hizo realidad cuando O. Warburg , demostró en los años 1937-38 , la formación de ATP en un acoplamiento de la primera oxidorreducción de la glucólisis .

No fué sino hasta 1937-41 , que se vio que la fosforilación oxidativa estaba acoplada a la respiración , de tal forma la fuente de energía era la oxidorreducción producida por la transferencia de electrones provistos por las - sustancias metabolizadas .

Para comprender mejor estas reacciones de oxidorreducción , es necesario revisar los antecedentes que sobre las oxidaciones biológicas se tienen .

Sobre las oxidaciones biológicas

La primera teoría sobre la oxidación biológica, surge después del descubrimiento del ozono por C.F. Schönbein, en 1940, fijando su atención en las formas activas del oxígeno, que se relacionan con la oxidación biológica. (12)

Encontró en 1857 que la base de la oxidación biológica era la conversión del oxígeno inactivo a ozono, más tarde se desechó esta teoría ya que el ozono no realiza oxidaciones en sistemas biológicos y aún más es tóxico.

Sucediendo a la anterior, vino la teoría del antozono, en donde el antozono al contacto con el agua formaba el peróxido de hidrógeno, iniciándose una tendencia hacia los peróxidos para explicar las oxidaciones, la que perduró hasta 1920, siendo los peróxidos los responsables de la oxidación de sustancias orgánicas, como lo demostró el descubrimiento de la enzima peroxidasa que cataliza oxidaciones en ciertas sustancias orgánicas por medio del peróxido de hidrógeno. La obra de A. Bach y Chodat (1903), reforzó esta teoría al dar a conocer que el sistema oxidante debía componerse de oxigenasa y peroxidasa. La oxigenasa transformaba el oxígeno a un peróxido orgánico, que era empleado por la hidrogenasa para oxidar otras sustancias.

Veinte años más tarde se supo que lo que llamaron oxigenasa no es un peróxido sino una quinona, siendo imposible que esta, realizara la oxidación.

No obstante la oxidación de una sustancia implica la reducción de otra, de tal manera que la misma enzima oxidante debe ser también reductora, en forma análoga Bach estableció que el sistema oxidante debía consistir de perhidruro y perhidrurasa, aún que nunca se tubo evidencias de su existencia.

La última teoría sobre la activación del oxígeno fue desarrollada por O. Warburg entre 1920-30, en Berlín, basada en pruebas experimentales realizadas en sistemas respiratorios de levaduras, bacterias y tejidos animales. Sostenía que el oxígeno era activado mediante una enzima hemoproteínica especial, el "fermento respiratorio", al combinarlo con una molécula de hierro, identificado más tarde por Kellin como uno de los citocromos (hoy se le conoce como citocromo^a₃ o citocromooxidasa).

Hacia 1920, surge una teoría totalmente diferente, ya que las moléculas orgánicas son inertes al oxígeno molecular y a otros oxidantes, por lo

que la que se activa es la molécula orgánica y no el oxígeno . De tal manera que los átomos de hidrógeno de la molécula se hacían lábiles y eran fácilmente trans-feridos a los agentes oxidantes . Lo que adquirió mayor importancia cuando se -supo que las oxidaciones biológicas son en su mayoría deshidrogenaciones , lo -- que reafirmo Thumberg en 1920 con el descubrimiento en tejidos vegetales y anima-les, de las deshidrogenasas , enzimas indispensables en la oxidación biológica .

Se hizo necesaria la introducción de un intermediario entre las teo-rías que establecían la activación del oxígeno y las que sostenían la activación del sustrato , de tal manera que se pudiera establecer un equilibrio entre los -procesos de oxidorreducción . Se debió a D. Keilin , el descubrimiento de tales intermediarios , los "Citocromos" , en 1925 , al hacer observaciones vitales en-tejidos , y registrando la oxidorreducción de estas hemoproteínas por medio del-espectroscopio . Al efectuar mediciones cinéticas pudo mostrar que en muchos te-jidos la respiración se efectuaba con la intervención de cinco citocromos , lla-mados : b , c_1 , c , a , y a_3 , ligados entre sí en serie y formando una cadena, cada uno reduce al que se encuentra a su derecha en el orden señalado y sólo el - a_3 es capaz de reducir al oxígeno , este último fué identificado por Keilin como el fermento de Warburg .

Dichos citocromos son incapaces de reaccionar directamente con las -deshidrogenasas , requiriendo de más portadores de hidrógeno . El primero de es-tos que reacciona directamente con las deshidrogenasas, fué descubierto por O. -Warburg , en 1931-36 , determinó su mecanismo de acción . Consiste de un piridin nucleótido coenzimático , el Nicotinamida- Adenina -Dinucleótido (NAD) o bien el fosfato del mismo (NADP) , al reaccionar ambas formas con las deshidrogenasas se reducan a la formas dihidro , estas formas reducidas son oxidadas por su sucesor en la cadena , tratándose de una enzima constituida por una parte proteínica y un grupo flavínico -suscceptible de ser reducido , siendo a su vez reoxidados por el último portador , la ubiquinona , que se engrana con el primer citocromo concluyendo el ciclo .

La primera flavoproteína fué descubierta y estudiada por Warburg , en 1932 .

De esta manera en la cadena respiratoria intervienen por lo menos -- ocho portadores sucesivos que acoplan los sustratos activados con el oxígeno . Por medio de este complicado sistema se produce la energía necesaria para los -- procesos biológicos , originandose de la reacción entre el sustrato y el oxígeno y almacenandose en forma de enlaces de alta energía .

Un aspecto de suma importancia es que el sistema tenga su sede en las mitocondrias , como lo señalo en 1912 , Kingsberg , un año después de que Warburg mostrara que la respiración estaba asociada a la parte granular de la mitocondria . Suceso que se confirma con la valiosa aportación de la centrifugación diferencial , que permite aislar estas estructuras celulares intactas . (12)

El ATP se sintetiza , en el transcurso del transporte de electrones liberados durante la oxidación de los sustratos , en tres etapas de la cadena respiratoria . (46)

Por lo menos tres teorías se han elaborado para explicar el mecanismo de esta fosforilación oxidativa .

La primera es la teoría química , según la cual habría tres puntos de conversión de la energía en la cadena respiratoria , en cada uno se ha supuesto que las reacciones que se efectúan , por ejemplo , a partir de dos transportadores de electrones , conducirían a la formación de ATP , acompañada de la formación de una molécula de agua .

La segunda es la teoría quimio-osmótica , fué propuesta por el inglés P. Mitchell en 1961 , se fundamenta en la hipótesis de que el ATP es sintetizado por la inversión de la actividad de la ATPasa .

La energía respiratoria no sufre un proceso de conversión químico , sino que es utilizada directamente para separar las cargas + y - de cada lado de la membrana interna mitocondrial , por lo que es necesario que la membrana posea una permeabilidad muy específica a los iones H^+ y OH^- , permitiendo a estos iones resultantes de la síntesis del ATP , pasar hacia las faces opuestas .

La tercera teoría fué propuesta por D.E. Green , en 1967 , y supone la existencia de una unidad membranosa repetitiva, tridimensional , que sería la unidad molecular de la transducción energética . La transferencia de electrones desembocaría en la transducción del potencial de oxidorreducción en energía conformacional útil entre otras cosas para sintetizar el ATP . (46)

RECONOCIMIENTO DE LAS PROTEINAS COMO MACROMOLECULAS DEFINIDAS

Con el surgimiento de la bioquímica moderna en la primera mitad del siglo XIX , empiezan a adquirir su importancia las proteínas dentro de los procesos biológicos . Anteriormente se contaba con conocimientos elementales sobre estas , como su coagulabilidad ante el calor , los ácidos y alcalis fuertes , cuando alcanzó su desarrollo la química orgánica , se conoció que presentaban como característica el contener nitrógeno . (19)

Con el aislamiento del primer aminoácido por Braconot , se incrementó el conocimiento acerca de las proteínas y a partir de entonces , entre 1820-1918 , sus unidades estructurales , los aminoácidos fueron identificados mediante la hidrólisis de proteínas .

El estudio sistemático de las proteínas se inició en 1830-40 , con los trabajos del químico holandés Gerardus Johannes Mulder , quien aplicó las nuevas técnicas del análisis elemental a sustancias naturales como la seda , la fibrina , clara de huevo , y la gelatina . Lo que le llevó a postular la existencia de sustancias de importancia fundamental en el metabolismo de vegetales y animales , y sin las cuales la vida no tendría lugar , por lo que Berzelius le propuso en 1838 , denominarlas "proteínas" (del griego proteios = de primer orden) . (19)

Continuando los estudios sobre estas moléculas , Justus Von Liebig , pudo llegar a la tesis de una clase única de proteínas con el mismo radical para todas , expresándolo así en una carta a Wöhler , en donde mencionaba : " Hay albúmina , fibrina y caseína vegetal todas idénticas entre sí o idénticas a las proteínas animales que llevan el mismo nombre" . Concepto que se abandonó hasta 1842 , cuando J.B. Dumas y A.Cahours , desarrollaron un método para determinar el nitrógeno en las proteínas , encontrándose las diferencias en su composición .

Descubrimiento y aislamiento de los aminoácidos

Entre los años 1850-1950 , se realizaron múltiples trabajos que permitieron determinar la estructura de los aminoácidos ya fuera por degradación o su síntesis directa . (24)

De esta manera desde 1820 , H. Braconnot , aisló el primer aminoácido

do por medio de la hidrólisis de las proteínas , tratando la gelatina con ácido sulfúrico caliente , obtuvo un compuesto al que denominó "azúcar de gelatina" - por su sabor dulce , posteriormente se le llamó "glicocola" , y en 1848 , Berzelius le dio el nombre de glicina .

Su estructura y síntesis se conocieron gracias a los trabajos de Cahours , partiendo del ácido monocloracético y amoniaco . (34)

La leucina fué aislada en 1819 , por M. Proust , en forma impura y un año después Braconnot la obtuvo de la hidrólisis ácida de la lana y el músculo , dándole el nombre de leucina . Fué sintetizada partiendo de isovaleraldehído , mediante la reacción de Strecker .

Por otra parte en 1846 , Justus Von Liebig , obtuvo la tirosina como un producto de degradación de la caseína , más tarde debido a su solubilidad en el agua pudo ser obtenida de los hidrolizados , así le aisló W. De la Rue , de la cochinilla , y F. Bopp , de la albúmina , la caseína , y la fibrina . (34)

En 1850 , intentando preparar el ácido láctico , a partir de acetaldehído amoniaco , ácido cianhídrico y clorhídrico , A. Strecker , sintetizó la alanina , mucho antes de que fuera aislada de fuentes naturales . Formó así un aminonitrilo el cual a la hidrólisis daba el correspondiente aminoácido , esta síntesis puede aplicarse a otros aminoácidos con sólo partir del correspondiente aldehído . El nombre de alanina le fué dado por Strecker , conservando para este la primera sílaba de la palabra aldehído . Más tarde en 1888 , T. Weyl , la aisló mediante la hidrólisis ácida de la seda , estableciendo su estructura y configuración por medio de su conversión a ácido láctico , con el empleo de ácido nítrico .

En 1865 , E. Cramer , aisló la serina de una proteína de la seda , clasificándola como un hidroxiaminoácido por ser su estructura similar a la de la alanina y sistina , la que fué determinada en 1912 , por E. Fisher y H. Leuchs mediante su síntesis directa . Así también se le aisló de hidrolizados de caseína por F. Lipmann , bajo la forma de fosfato ester .

El ácido glutámico , lo aisló H. Ritthausen , en 1866 , al hidrolizar el gluten de trigo , así también se le aisló de soluciones acuosas , en forma de clorhidrato . Su síntesis fué desarrollada en 1890 , por L. Wolff .

En tanto el ácido aspártico fué reconocido en un principio sólo como un producto de hidrólisis de la asparagina , y más tarde Ritthausen lo aisló de

un hidrolizado de conglutin , legumin . (34)

E. Schulze y J. Barbieri , obtuvieron en 1879 , la fenilalanina , de retoños de altramuz , y más tarde de proteínas vegetales . Su estructura se confirmó en 1882 , cuando fué sintetizada por Erlenmeyer E. Jr , y Lipp A. .

La lisina fué aislada por primera vez en 1889 , por E. Drechsel , a partir de un hidrolizado de caseína y supuso que se trataba del pentano metil en diamina , lo cual se confirmó en 1902 , por E. Fisher y F. Weigert , -- quienes la sintetizaron .

En 1895 , S.G. Hedin , obtuvo la arginina precipitándola con nitrato de plata , de un hidrolizado de proteínas del cuerno . Aún que ya anteriormente había sido aislada en 1886 por Schulze E. y Esteiger E. , de semillas de altramuz . Su estructura se determinó mediante la hidrólisis ácida de la ornitina y por consiguiente de la urea . También fué aislada de hidrolizados de proteína , precipitandola en forma de mono y diflavinato .

La histidina se obtuvo en 1896 por Kossel A. , hidrolizando la estearina (proteína del esperma del esturión) , con ácido sulfúrico . En forma independiente fué obtenida por Hedin S.G. , de hidrolizados de proteína . La presencia de un anillo de imidazol en su estructura fué encontrada por Pauly H. obteniendo un compuesto rojo , al tratarla con ácido sulfanílico en solución alcalina , la estructura fué conocida en 1811 , por Pyman F.L. , quien la sintetizó .

La cistina fué obtenida por Wollaston H.W. , en 1810 , de un cálculo urinario , y en 1899 , Möerner K.A.H. , la obtuvo hidrolizando las proteínas del cuerno .

Anteriormente en 1884, Baumann E. , encontró que podía pasar de cistina a cisteína , reduciéndola con ácido clorhídrico y zinc . La estructura de ambos aminoácidos fué reconocida por Erlenmeyer , mediante su síntesis directa .

La obtención de la valina se debe a Von Gorup-Besanes , quien en 1856 , la aisló de extractos de páncreas , aunque anteriormente había sido presentada como un producto de hidrólisis de la albúmina, por P. Schützemberger , su estructura fué encontrada por Fisher en 1906 .

Cinco años antes , en 1901 , Fischer E. , había obtenido la L- prolina , de un hidrolizado de caseína y sólo un año antes (1900) , había sido --

sintetizada por R. Willstätter , a partir del ester dibromopropilmalónico . En forma independiente Fischer la sintetizó partiendo del ester ftalimido propilmalónico . Entre tanto F.G. Hopkins y S.W. Cole , la obtuvieron en 1901 , mediante la digestión pancreática de la caseína . En 1907 , A. Ellinger y C. Flamand , decifraron su estructura . (34)

En 1902, E. Fischer , aisla la hidroxiprolina , mediante la hidrólisis de la gelatina , reduciendo el grupo hidroxilo , obtuvo la prolina . Su síntesis se debe a H. Leuchs y colaboradores , los que además lograron sus cuatro estereoisómeros .

La isoleucina fué aislada en 1904 por F. Erlich , de la melaza del azúcar de remolacha , y posteriormente mediante la digestión pancreática de la fibrina , el gluten húmedo , la albúmina de huevo , y la carne , encontrando que presentaba las mismas propiedades de la leucina , y sin embargo una solubilidad y punto de fusión diferente . Más tarde prosiguió con la degradación de la L- isoleucina para obtener D- amilamina , y consiguió preparar un epímero de este aminoácido partiendo de D- isovareraldehído .

El descubrimiento de la metionina , es el resultado de los esfuerzos por determinar los factores de crecimiento de un estreptococo hemolítico , realizados por J.H. Mueller , quien le aisló en 1922 , de un hidrolizado de caseína , obteniendo además su composición elemental . Su estructura surgió cuando G. Barger y F.P. Coyne la sintetizaron , empleando la reacción de Strecker .

Posteriormente , en 1935 , W.C. Rose , R.H. Mc. Coy , y C.E. Meyer , aislaron la treonina , mediante la hidrólisis ácida de la fibrina , intentando encontrar un factor que favoreciera el crecimiento en ratas , en hidrolizados de proteína . Fué sintetizada por H.E. Carter , y subsecuentemente H.D. West y Carter obtuvieron sus cuatro isómeros .

En 1849 , F. Bopp y en 1873 , H. Hlasiwetz y J. Habermann , introdujeron una modificación al método de hidrólisis , empleando como agente hidrolítico el ácido clorhídrico concentrado (6 a 12 N) , en una proporción de 5 a 10 veces el peso de la proteína , a una temperatura de 100 - 110° C , durante 6 a 20 horas .

Una vez reconocidos los aminoácidos , se intentó explicar la forma en que se enlazan estas unidades , por lo que E. Fischer y F. Hofmeister , propusieron la formación de los péptidos , surgiendo un gran interés por la deter-

minación cuantitativa de los aminoácidos que constituyen las proteínas .

Así durante el período de 1900 - 1940 , aparecieron : el método de separación de aminoácidos de E. Fischer , fundamentado en la conversión de estos a sus esteres etílicos , y separandolos por destilación fraccionada , el método de Kossel para aminoácidos básicos por precipitación con iones de plata y su — tratamiento posterior con ácido fosfotúngstico . (24)

Por otra parte Foreman desarrollo un método para determinar aminoácidos ácidos , pero requería una gran cantidad de proteína , por lo que se ideó el método colorimétrico , mucho más sensible , pero no todos los aminoácidos dan prueba colorida específica .

Con todo esto la química orgánica alcanzo un gran progreso en el estudio de las proteínas , lo que condujo finalmente a su reconocimiento como moléculas bien definidas , poseedoras de una secuencia de aminoácido única , y la cual podía ser determinada .

No obstante que existía un gran interes sobre estas enormes moléculas , y la forma en que se asocian , no fué aceptada inmediatamente su existencia.

Su aceptación se vio favorecida hasta 1917 , por los trabajos de S. P.L. Sorensen , sobre la determinación de las propiedades coligativas de la albúmina , mostrando que las soluciones de ovoalbúmina en sulfato de amonio , seguían las leyes de la fisicoquímica . (19)

En 1924 , se borra toda duda de la naturaleza macromolecular de las proteínas , ante la evidencia de que las proteínas al disolverse en fenol se — disgregan en unidades más pequeñas , con un peso molecular de sólo algunos miles , lo que indica que se trata de agregados de pequeñas moléculas unidas por valencias secundarias .

Un año después , en 1925 , Edwin J. Cohn y J.B. Conant , mostraron a las proteínas como verdaderas moléculas y electrolitos , mediante mediciones del punto de congelación de soluciones de proteína en fenol , observando que — con la adición de proteína , se producía una pequeña variación en el descenso — del punto de congelación de las soluciones .

Posteriormente en 1940 surgieron los métodos microbiológicos , útiles para cuantificar todos los aminoácidos , y sin embargo sólo algunas proteínas fueron analizadas y en su mayoría eran la compilación de datos de varios laboratorios . (20)

Determinación de los residuos N-terminales

Un gran auge se produjo en la química de las proteínas , cuando en 1945 , el bioquímico inglés F. Sanger , introdujó el empleo del 2,4- dinitro fluoro benceno (DNFB) , para la determinación de los residuos N- terminales en el análisis de las proteínas . Partiendo de que el (DNFB) reacciona con los grupos amino libres de las cadenas peptídicas , para dar un derivado estable de color amarillo . Siendo el primero en determinar la secuenciacompleta de aminoácidos en una proteína , para ello trató la insulina con DNFB , seguida de una hidrólisis ácida , finalmente por cromatografía en papel , gel de sílice e ionoforesis , separó los productos coloridos de la hidrólisis , al compararlos con estándares , revelaron que la glicina y la fenilalanina forman las terminales de cada cadena en la insulina . Tomando como base su peso molecular de 6000 se supo que la molécula esta formada por dos cadenas unidas por puentes disulfuro . (24)

Sanger , despues de tratarlas con DNFB , separó las cadenas empleando ácido fórmico que transforma la cisteina en dos moléculas de ácido cistéico . En seguida realizó la hidrólisis ácida parcial y con proteinasas , encontrando que la cadena glicínica ("A") constaba de 21 residuos de amonoácido , en tanto la fenilalanínica ("B") de 30 residuos , y cuya secuencia de ambas cadenas de terminó conjugando la hidrólisis parcial , con la identificación de grupos terminales .

Una vez determinada la posición de los puentes disulfuro de los grupos glutaminilo y asparagilo , por degradación . Con todo ello presentó una estructura definida para la insulina de buey .

Al aplicar esta metodología a la insulina de otras especies , Sanger , encontró una estructura similar para todas ellas , con una pequeña variante en la secuencia de aminoácidos en el anillo semicistina , localizado en la cadena "A" .

Por otra parte , E . Brand , en 1946 , fué el primero en reportar el análisis completo de una proteína , la β - lactoglobulina , efectuado por un sólo laboratorio y mediante varios métodos . (24)

En 1948 , S. Moore y H.W. Stein , introdujeron el método cromatográfico , de gran utilidad y que requiere una pequeña cantidad de muestra para el

análisis completo de un hidrolizado de proteína .

Anteriormente S. Ruhemann , había mostrado que los aminoácidos reaccionan con gran sensibilidad ante la ninhidrina , para dar un compuesto púrpura conocido como púrpura de Ruhemann , lo cual fué de importancia en la determinación de los aminoácidos por cromatografía en papel . (20)

Más tarde se elaboraron otros métodos para determinar grupos terminales , siendo los del "fenil tiocarbamilo", de P. Edman , en el cual se trata la proteína con fenil isosulfocianuro para obtener un feniltiocarbamilo , que - al hidrolizarlo con HCL , da la fenil tiohidantoína del aminoácido N- terminal , que adiferencia del resto de la cadena es soluble en solventes orgánicos , lo - que permite su análisis por cromatografía . Mediante un segundo tratamiento de la cadena peptídica con el reactivo es posible identificar el segundo aminoácido terminal . (24)

Otro método fué ideado por A.L. Levy , en donde el peptido reacciona con el CS_2 en un medio alcalino , formando el tiocarbamato ($-NHCS_2-$) .

Así también se ha empleado métodos enzimáticos , en donde la enzima aminopeptidasa hidroliza en forma selectiva los enlaces peptídicos adyacentes a los grupos α - amino terminales , los aminoácidos liberados son analizados por cromatografía .

Estructura tridimensional de la molécula de proteína

En los comienzos del siglo XX , surgió un gran interés sobre el papel que juegan las enzimas en las reacciones químicas de la célula , y ya que la mayoría de las enzimas conocidas resultaron ser proteínas , se hizo necesario el desentrañar la estructura de estas macromoléculas . De esta forma entre 1934-35 , John D. Bernal , cristalógrafo de rayos X , y Dorothy Crowfoot Hodykin , habían obtenido los primeros diagramas de rayos X de una proteína , un marcado contraste en las fotografías de la pepsina , indicaban que apesar de su gran tamaño , las proteínas debían tener una estructura con un estricto ordenamiento , lo cual sólo sería posible si cada átomo guardaba una posición definida en cada una de las moléculas que componen el cristal .

Este hecho causó gran impacto en esta época , en la que las protei-

nas eran consideradas como coloides , de estructura indefinida , motivando así a Max Ferdinand Perutz a comenzar en 1936 , la dilucidación de la estructura tridimensional de las proteínas .

La secuencia de los aminoácidos y la presencia de los puentes disulfuro no pudo explicar satisfactoriamente la estructura de las proteínas , y con ello sus propiedades físicas .

La clave de la estructura y forma de las moléculas de proteína , fué encontrada por Linus Pauling y A.E.Mirsky , al observar la formación de un enlace muy débil entre las moléculas de ácido fórmico (puentes de hidrógeno) , y formar un dímero . Considerando la formación de estos enlaces en las proteínas , se explica el plegamiento de las cadenas peptídicas , manteniendo así la proteína su estructura característica , y su desnaturalización mediante la ruptura de estos débiles enlaces . (24)

Para conocer la configuración de las proteínas , se ha empleado la difracción de los rayos X , al hacerse incidir sobre cristales de proteína .

Mediante la interpretación de los diagramas de difracción , se hizo posible asignar una distribución espacial a cada átomo , desarrollandose con ello un modelo tridimensional que satisfaga las propiedades fisicoquímicas de estas moléculas . De esta manera , en 1951 , Linus Pauling , basado en los diagramas de rayos X de proteína nativa y péptidos sintéticos obtenidos por Perutz desarrollo una estructura fundamental para las proteínas , partiendo de los ángulos y longitudes de enlace obtenidos para la queratina (proteína fibrosa del pelo , cuerno y uñas) . Propuso la estructura de "la hélice α " , con las cadenas peptídicas enrolladas sobre sí mismas en forma espiral , y en las cuales los grupos carbonilo y los imido de los residuos de aminoácido se encuentran unidos por puentes de hidrógeno .

Dicha hélice esta constituida por 3,6 residuos de aminoácido por cada vuelta , y encierra la máxima estabilidad . El desplazamiento en las cadenas peptídicas en la hélice , da origen a la β -queratina , cuya estructura caracterizada por la unión en forma lateral de varias cadenas adyacentes , por medio de puentes de hidrógeno , ha sido denominada de "hoja plegada" , la cual es frecuente en la fibroína de la seda , en el músculo y las fibras contráctiles . Lo que llevo a Pauling y R.B. Corey a proponer un mecanismo para la contracción mus-

cular , en el cual las cadenas de la proteína del músculo están replegadas casi totalmente , enrollándose a la forma de hélice α en el estado de contracción .

Por otra parte , Atsbury y Dickinson , mostraron que tanto en el estado relajado como en el extendido , el músculo presenta la estructura de la queratina , la cual sufre una desorientación durante la contracción .

En 1959 , Max Perutz y sus colaboradores , mediante diagramas de rayos X , pudo elaborar un mapa tridimensional de la oxihemoglobina de caballo , mostrando así la estructura terciaria de la molécula de proteína , por lo que - en unión con John Cowdery Kendraw , recibió el premio Nobel en química en 1962.

La secuencia completa de los 140 aminoácidos que componen a cada una de las cuatro cadenas que forman la hemoglobina , ha sido determinada por - Walter A. Schroeder y colaboradores , en el instituto Tecnológico de California , mediante el análisis químico .

EL ACIDO DESOXIRIBONUCLEICO

El descubrimiento de los ácidos nucleicos se realizó por medio de las investigaciones del suizo Johann Friederch Miescher, quien en 1869, trabajando en los laboratorios de Ernest Felix Hope-Seyler (Tübingen, Alemania), se interesó particularmente por el núcleo celular, como fuera difícil aislarlo del citoplasma circundante y de las membranas externas, centro su interés en las células de pus que obtenía de vendajes quirúrgicos por presentar núcleos grandes y poco citoplasma. (7), (21)

Así en 1869, logra aislar el núcleo de las células de pus, encontrando que contenía un compuesto poco común, probisto de un carácter ácido, y cuyas moléculas aparentemente muy grandes son ricas en fósforo. A este complejo de DNA y proteína (nucleoproteína), le llamó "nucleína".

En 1870, de regreso a su natal Basilea, continúa sus estudios con el esperma del salmón, por ser una fuente rica en material nuclear y del cual en 1872, obtuvo por primera vez el DNA puro y una base a la que fué dado el nombre de "protamina".

Miescher y sus colaboradores caracterizaron con mayor profundidad su descubrimiento, así en 1889, Richard Altmann, introdujó el término "ácido nucleico", y describió un método para la obtención de DNA libre de proteínas, a partir de tejidos animales y levadura.

Posteriormente se encontró que los ácidos nucleicos son constituyentes fundamentales tanto de células animales y vegetales como de microorganismos.

Sin embargo Miescher no pudo precisar la función primaria de la substancia que había descubierto. No se contaba aún con los fundamentos químicos necesarios para comprender como estas moléculas se asociaban en largas cadenas.

Tiempo después, Albrecht Kossel realiza el primer estudio químico sobre los ácidos nucleicos, en Heidelberg, al que siguen las investigaciones de Walter Jones, en Baltimore, P. A. Levene, en New York.

En los comienzos del siglo XX, se había reconocido que los ácidos nucleicos se constituyen por tres componentes: una base nitrogenada (purina o

pirimidina), un azúcar de cinco átomos de carbono, y el fosfato, que es el que le confiere el carácter ácido. (21)

Era ampliamente conocido que los ácidos nucleicos de la levadura, contenían una pentosa. La que en 1909, P.A. Levene, reconoció como la ribosa.

En 1914, Davdson y Waymouth C., probaron que el azúcar del RNA de hígado, correspondía a la ribosa, mediante su identificación como p - bromofenil hidrazona.

Los trabajos de Levene y su grupo, mostraron en 1931, que los nucleótidos eran N - glucosidos. Resolviendo también la obscura naturaleza del azúcar presente en el DNA del timo, cuando Levene y Mori, la aislaron de este ácido nucleico, y mostraron que era una deoxipentosa.

Subsecuentemente, en 1943, J.M. Gulland, probó que la pentosa -- del RNA de levadura, es la D-ribosa, mediante la conversión del ácido aldonicco, obtenido a partir del azúcar durante la hidrólisis de nucleótidos de pirina, al correspondiente benzaminazol.

En lo que respecta a las bases púricas (guanina y adenina) y pirimidicas (timina, citocina, y uracilo). En 1884, fué descubierta la guanina, aislandosele del guano, en tanto la adenina fué aislada inicialmente por Kossel en 1885 a partir de extractos de páncreas bovino. Las otras tres bases. La timina fué encontrada en 1893, en el timo de ternera, el uracilo fué obtenido en 1894, de la levadura, y la citocina fué aislada en 1900 del ácido nucleico.

La forma en la que se enlazan los tres componentes para formar el nucleótido, se definió por medio de hidrólisis ácida y alcalina.

En la década de 1920, se extendió la idea de que el RNA, debía ser representativo de los vegetales, en tanto el DNA, sería característico de los animales. Idea que fué abandonada en los años 30, cuando se obtuvieron -- pruebas inequívocas de que tanto DNA como RNA son constituyentes universales de toda célula, gracias a los estudios de espectrofotometría ultravioleta, realizados por Casperson T., a los experimentos histoquímicos de J. Brachet, y en 1944-46, a los resultados analíticos de Davidson J.N. y Waymouth C. (7), (21)

El empleo de nuevas técnicas citoquímicas, y el fraccionamiento celular, mostraron que el DNA, se encuentra en el núcleo, entanto el RNA se localiza además en el citoplasma.

Por otra parte , se ha sabido que durante la mitosis se le localiza en los cromosomas , en donde los nucleótidos se arreglarían en juegos de cuatro repitiendose , así surgió la "hipótesis del tetranucleótido" , apoyada por los trabajos de Levene y Jones , quienes en base a los pesos moleculares de los productos de hidrólisis , postularon que la molécula del ácido nucléico debía ser la unión de los cuatro nucleótidos . Pero la aplicación de las técnicas cromatográficas al análisis de estos , hecho por tierra esta teoría , al encontrarse que las proporciones de las bases no la podían sostener . (21)

Sin embargo permanecía la duda sobre la verdadera función del DNA , pensandose que sólo era una estructura de sosten y la actividad genética se debería a la proteína asociada a este .

La posibilidad de que tuviera un papel importante , se contemplo gracias al cirujano Frederick Griffith , quien en 1923 , durante un trabajo en su laboratorio en el ministerio de salud de Londres , descubrió dos tipos de neumococos clasificandoles en las categorías R (rough = rugoso) y S (smooth = liso) , obedeciendo a la habilidad para sintetizar un polisacárido capsular específico. Las formas S se cubren con esta cápsula gelatinosa que les protege de las defensas de los organismos infectados , convirtiéndose en virulentos , en contraste con las formas R , que han perdido la capacidad de síntesis capsular . (21)

Posteriormente , en 1928, Griffith , publicó un asombroso descubrimiento . Habiendo inoculado a unos ratones con los dos tipos de neumococos , un cultivo vivo del tipo R y una pequeña cantidad de la forma S , tipo III , inactivado por calentamiento . Encontrando que la mayoría de los ratones habían muerto , el análisis de la sangre reveló la presencia de células vivas del tipo S , III virulento , lo que causo un gran impacto , dando origen a un sinnúmero de especulaciones . Puesto que era difícil dar credito a tal descubrimiento fue repetido en Berlin , en el mismo año , y en 1929 se efectuó en el Instituto Rockefeller de New York .

Durante la década siguiente , Oswald Avery , en el Instituto Rockefeller , emprendió la búsqueda de la sustancia responsable de la transformación. en 1936 , sospecho que debía tratarse del ácido nucléico , ya que sus propiedades no correspondían con las de las proteínas o los carbohidratos .

En 1944 , desarrollo un método de purificación de DNA a partir de -

un cultivo de neumococo S tipo III , en un medio de caldo de corazón de res , - mediante centrifugación separó las bacterias , rompiendo la pared celular por agitación con sales biliares , lavando con soluciones salinas , eliminando proteínas y el polisacárido capsular con enzimas , y por último lo precipitó con alcohol etílico .

Una vez aislado el DNA , procedió a determinar su naturaleza ; empleando métodos cualitativos sofisticados que incluían técnicas enzimáticas , - pruebas inmunológicas , electroforesis y métodos espectrofotométricos que mostraron que sus propiedades y espectro de absorción correspondían con los patrones de DNA .

En base a sus propiedades físicas y químicas , Avery , pudo concluir que debía tratarse del desoxirribonucleato de sodio , y debido a la presencia - de una alta especificidad , podía al igual que el gene dirigir la síntesis de otras sustancias . Y como una vez inducido en cambio las generaciones posteriores no podían regresar a su estado inicial , este agente debía duplicarse junto con la célula . (21)

En 1944 , publica su trabajo en la revista Medicine Experimental , con el título "Estudios sobre la naturaleza química de la substancia inductiva de transformaciones en tipos de neumococos . Inducción de la transformación por medio de una fracción de ácido desoxirribonucleico aislado de neumococos tipo - III" . En sus conclusiones hace énfasis en su función biológica , señalando que sería el dirigir los eventos bioquímicos y transmisión de los caracteres hereditarios de la célula .

Por otra parte , durante la primera guerra mundial , en los laboratorios de Francia e Inglaterra , se había observado un fenómeno íntimamente ligado con la transformación en neumococos y que vino a confirmar la función genética del DNA . En el cual las bacterias sufrían lisis , bajo la acción de entidades más pequeñas , las que se reproducían por sí mismas , y a las que en - 1915 , el bacteriólogo Frederick Twort , supuso como virus o bien como enzimas.

Después , el bacteriólogo Felix d' Herelle , trabajando en el instituto Pasteur de Paris , sobre los bacilos de la disentería , se encontró nuevamente con la destrucción de las bacterias por esta entidad a la que denominó "BACTERIOFAGO" (del griego , phagein = devorar) , no obstante se continuó -

considerando a una enzima como la responsable de este fenómeno .

En 1921 , Müller añadió que este agente no sólo se multiplicaba , - sino también al igual que el gene podía inducir cambios genéticos .

No fué sino hasta 1942 , que Salvador Luria y Thomas Anderson , ob- servaron por primera vez al microscopio electrónico un fago , encontrando que - se constituía de una cabeza y una cauda . En seguida se intento determinar su na- turaleza , así como su mecanismo de reproducción , una vez infectadas las bacte- rias .

En 1949 , cuando Thomas Anderson logro inactivar el fago T_4 , al di- luir el medio salino de cultivo , debido al choque osmótico . Los residuos de - las cabezas del fago , fueron analizados por Roger Herriot , encontrando que - se componían unicamente de proteínas . Tiempo después en base a otras microgra- fías que mostraban los fantasmas entrelazados a los filamentos del DNA , Ander- son y Herriot concluyeron que debían constituirse por una cabeza proteínica que encapsulaba al DNA , y una cauda provista de filamentos .

Con respecto al mecanismo de infección de los fagos , Herriot , ela- boró la hipótesis en la cual los virus se fijaban a su huesped con los filamen- tos caudales y como una jeringa hipodérmica inyectaba su DNA hacia el interior de la bacteria , seguida de la lisis de esta misma y la liberación de un gran - número de virus .

Esta teoría fué reforzada por los trabajos de Alfred Hershey y Mar- tha Chase , entre 1950-51 , quienes motivados por los descubrimientos de Ander- son - Herriot , intentaron decifrar donde habían quedado los componentes de la - cápsula del fago . Partiendo de que el DNA no contiene azufre , y las proteínas virales no contienen fósforo , cultivaron fagos en un medio que contenía fósfo- ro radiactivo . Con estos fagos marcados infectaron bacterias y minutos después intentaron separar los fantasmas de las células bacterianas sin éxito , por lo que hicieron agitar la solución bacterial en una licuadora , seguida de centrifu- gación , encontrándose que la proteína marcada permanecía en la solución , en- tanto el DNA marcado se localizaba en el sedimento con las bacterias , las que al colocarse en un medio fresco continuaban el ciclo , hasta la liberación de - nuevos virus . (23)

De esta forma quedo establecido sin lugar a duda que era el DNA -

la substancia transformante de los neumococos , sin embargo nadie habia logrado explicar como poseia tal actividad biologica , su estructura no era aun determinada , sólo se conocia vagamente que es una molécula fibrosa , compuesta por nucleótidos , pero se desconocia la forma en que se unen .

El trabajo de Avery , despertó un profundo interés por lograr asociar la actividad biologica del agente transformante a una estructura especifica . Así el bioquímico Erwin Chargaff , inicio el estudio de las proporciones y el ordenamiento de los nucleótidos en la molécula del DNA , empleando la cromatografía en papel , separó y cuantificó sus componentes . Las proporciones obtenidas para las cuatro bases "de uno a uno" , mostraron que el DNA esta formado por la repetición de cuatro nucleótidos básicos , puesto que las bases debian aparearse en una forma especifica , por lo que sólo serian cuatro las posibilidades de apareamiento .

A mediados de 1930 , se inicia con Linus Pauling , el estudio de la estructura de las biomoléculas , en particular la de las proteínas , otro tanto hizo William T. Atsbury en Leeds , el cristalógrafo Desmond Bernal en Cambridge , y más tarde Max Perutz y Lawrence Bragg . (22) .

Atsbury , empeno sus estudios de difracción de rayos X con una muestra de DNA de timo de ternera , obteniendo varias placas radiograficas de sus fibras , las que mostraban una zona fuertemente marcada , lo que indicaba que el patrón se repetía cada 27 \AA . Los datos aportados por las placas señalaron que las bases tienen una configuración plana , apilándose en la estructura con una separación de 3.4 \AA .

Midiendo la densidad del DNA seco , supo que su molécula se constituía por más de una fibra , lo que le permitió presentar en 1938 , una serie de estructuras posibles que explicaban perfectamente la asociación de proteína y el DNA en los cromosomas , pero no se les dio la debida importancia .

En 1934 , Desmond Bernal , habia encontrado que manteniendo húmedos los cristales de las biomoléculas , se obtenian patrones de difracción bien definidos , los que facilitarían la determinación directa de la estructura , pero no pudo obtener buenos resultados hasta 19 años después , que Max Perutz controló todas las variables .

Por su parte, E. Chargaff , en 1950 , hizo una clara distinción er

tre la uniformidad de la molécula del DNA , y la compleja molécula de las proteínas .

En este mismo año Linus Pauling y Robert Corey , en base a sus estudios sobre la queratina , lograron decifrar la estructura secundaria de las proteínas . (22)

Entre tanto , Maurice Wilkins junto con Raymond Gosling , se iniciaron en el estudio cristalográfico del DNA , en el King's College de Londres , al analizar una muestra al microscopio de luz polarizada , empleando luz ultravioleta y controlando siempre la humedad de las fibras , produjeron fotografías mucho más claras , lo que les aliento a ir adelante , para lo cual se contrato a Rosalind Franklin , experta en rayos X , y que junto con Gosling continuaría el análisis del DNA .

En forma independiente , en Dinamarca , el bioquímico Herman Kalckar se encontraba también trabajando sobre los ácidos nucleicos , teniendo como asistente a James Dewey Watson , que colaboraba además con el "grupo de los fagos" , en un trabajo sobre el mecanismo de reproducción de virus bacterianos .

En 1951 , Kalckar y Watson , conocieron los patrones cristalinos de Wilkins , que aunados a la estructura de Pauling para las proteínas , le convencieron de que el DNA debía tener una estructura regular y de la importancia de la difracción de rayos X para determinar dicha estructura . Por lo que Luria , le consiguió ir a estudiar a Cambridge con M. Perutz , quien con sus trabajos cristalográficos confirmó la hélice de Pauling . (22)

Dos años antes había llegado al Cavendish , el biólogo molecular - Francis Comton Crick , atraído por los trabajos de Perutz , y empezó desde entonces a adentrarse en el estudio de la conformación del DNA .

En 1951 , se conocieron Watson y Crick , en el laboratorio de L. Bragg , y fué su común interés por decifrar la naturaleza de la vida , lo que les hizo asociarse para estudiar la molécula del DNA y esclarecer la forma en que se transmite la información genética . (22)

Por otra parte , algunas fotografías de Wilkins , de piscas delgadas de DNA mostraban la misma configuración en cruz , que había sugerido a Pauling la hélice , esto hizo pensar que el DNA debía ser una hélice .

En forma simultanea , R. Franklin , introdujo mejoras a los equipos

de rayos X , logró descubrir que el DNA presentaba dos patrones de difracción - a los que llamó formas A y B correspondiendo al estado cristalino y húmedo respectivamente . Con el fin de fundamentar la estructura helicoidal , centro sus estudios en la forma A , encontrando que la estructura se repetía cada 27 \AA° , lo cual sólo podía deberse a una hélice , su densidad sugería la existencia de más de una cadena , las que se unirían por puentes de hidrógeno entre los grupos fosfato. (22)

Por ultimo , sus mediciones sobre la forma cristalina , señalaban - que la celdilla unitaria sería monoclinica centrada en la cara . En noviembre - de 1951 , Franklin , dio a conocer sus resultados junto con las fotografías , lo que motivo a Watson y Crick a construir su primer modelo para el DNA , constituido por dos cadenas entrelazadas por los puentes de hidrógeno , las bases se localizarían en el exterior al no poder formar puentes de hidrógeno ya que este - no permanecía en una posición fija , encontrándose en equilibrio tautomérico entre las formas ceto y la enol . El modelo resulto de una densidad menor a la calculada , optando por el de tres cadenas , con un claro en el centro donde se acomodarían ocho moléculas de agua.

Días después R. Franklin les mostró que la estructura fundamental - no podía localizarse en el interior , y el contenido de agua era insuficiente - para los iones sodio que contendría . (23)

Entre tanto Franklin , había logrado eliminar la dispersión del haz de rayos X , y controlar la humedad relativa en las fibras . El dos de mayo de 1952 , continuó el estudio con la forma B , después de exponer una fibra a los rayos X , durante 62 hrs. , obtuvo una fotografía excelente a la que marcó con el número 51 , y que correspondía sin lugar a dudas a una hélice , presentaba arriba y abajo unos arcos de gran intensidad , en el centro presentaba una cruz - de pequeñas manchas . Mediante una análisis más profundo mostro en 1953 que las manchas , correspondían a los grupos fosfatos , los componentes más pesados de la molécula , identifico en el decimo nivel el arco denso de 3.4 \AA° , que marca el espaciamiento entre nucleótidos , por lo cual la hélice daba un giro en 34 \AA° y se constituía de diez nucleótidos, tendría un diametro de 20 \AA° . Desde entonces y con la ayuda de Gosling , y basandose en esta fotografía , intentó llegar a la estructura mediante un sofisticado método matemático . (23),(41)

Por su parte Watson y Crick , continuaban sin comprender como se enlazarían las cadenas en la molécula , Watson proponía a los iones sodio y magnesio como unión entre los fosfatos de las cadenas , en tanto Crick , como las bases eran el único componente variable , empezó a ver la posibilidad de que fueran estas las portadoras de la información genética , y como no podían formar puentes de hidrógeno , supuso que se intercalarían o quizás se asociarían bases semejantes , explicándose fácilmente la duplicación del DNA . Por lo que pidió al matemático John Griffith , evaluara si las cargas eléctricas permitirían el apareamiento entre bases semejantes . Griffith , le informó el haber encontrado el acoplamiento complementario entre la adenina y la timina , y citocina con guanina , lo que concordaba con los cocientes de 1:1 de Chargaff , implicando una duplicación complementaria .

En 1952 , Pauling comenzó a interesarse en el DNA , reunió toda la información acerca de este , y en poco tiempo desarrolló un modelo , el que dio a conocer junto con Corey . Se componía de tres hélices entrelazadas , unidas por los fosfatos los que se localizaban en el interior de la estructura , la que daba una vuelta completa en 27.1 \AA , el empaque era tan justo que sería poco estable y lo más importante , no tomaba en cuenta los cocientes de 1:1 , y no podría explicar la duplicación del DNA .

Con el anuncio de la estructura de Pauling , y las fotografías de la forma B , tomadas por Franklin y su descripción completa que Wilkins le había dado , Watson quedó convencido de la estructura helicoidal y motivado a emprender nuevamente un modelo , en el cual las bandas se enrollarían como listones en un cilindro . (23)

Independientemente , Franklin , había terminado la parte matemática iniciando la interpretación , para enseguida realizar un modelo . Inicialmente propuso una estructura de 8 , la que abandonó por la de dos bandas .

Unos meses después Crick , se enteró por un reporte de Franklin , que el DNA , al igual que la hemoglobina posee una celdilla unitaria monocéntrica centrada en la cara , con lo cual pudo deducir que al girar la molécula 180° , una mitad era el inverso de la otra , lo que se denomina "simetría diédrica" , esto implicaba que mientras una cadena asciende la otra desciende , descartando se la posibilidad de una molécula de tres bandas .

Sin embargo , Watson aún no podía acoplar las bases sin que se produ-

jeran deformaciones en la estructura debido a sus diferencias en tamaño , por lo que el cristalógrafo Jerry Donohue , le dio la clave al indicarle que no había evidencias de que sufrieran cambios tautomericos , y como el acoplamiento de igual a igual no tomaba en cuenta los cocientes de 1:1 , ni permitía la simetría diádica , recuerdo la complementaridad de las bases señalada por Griffith , e intentó probar este acoplamiento , encontrando sorpresivamente un ajuste perfecto entre la adenina y la timina , al igual en la citocina y la guanina , formando puentes de hidrógeno en forma natural y con la longitud adecuada para no producir distorsiones en la estructura . Con sólo una inspección Crick pudo visualizar que el acoplamiento entre las bases sería único , haciendo que las cadenas fueran antiparalelas y formadas por purinas y pirimidinas , satisfaciendo la simetría diádica y las relaciones de Chargaff de 1:1 .

De esta manera Watson y Crick , reuniendo todas las aportaciones de diversos investigadores a través de los años , y dándole una interpretación lógica , lograron dilucidar la estructura del DNA , y traducir todos estos esfuerzos en un modelo atómico a escala , que comenzaron a construir el 4 de marzo de 1953 . Este modelo estaría constituido por dos cadenas enlazadas coaxialmente en el sentido de las manecillas del reloj , en forma antiparalela , dando un giro en 34 \AA . (23)

Inicialmente construyeron sólo una cadena , y una vez seguros de que estaba correcta , armaron la otra en forma complementaria , tomando la primera como molde . Finalmente el modelo de la doble hélice estuvo terminado el 7 de marzo , y enseguida Watson y Crick la expusieron en el artículo que apareció el 25 de abril del mismo año , en la revista Nature . Como una confirmación a esta publicación de Wilkins sobre la aplicación de la teoría de la difracción helicoidal al DNA , manifestando que sus estudios sobre el DNA de cabezas de espermatozoides y en fagos le sugerían una estructura de hélice , y a continuación aparecían las conclusiones de Franklin , sobre la forma B del DNA , anexando la fotografía # 51 y sus cálculos los cuales estaban en concordancia con la doble hélice .

El anuncio público de la doble hélice fue hecho por L. Bragg , en Bruselas , durante la conferencia Solvay . (23)

Los primeros fundamentos experimentales para la estructura helicoidal

dal fueron aportados por R. Franklin y Colling , quienes habiendo terminado los cálculos para la forma A , publicaron en julio del mismo año , que tanto la forma A como la B , presentaban la estructura de doble hélice .

Por otra parte , el mecanismo de duplicación del DNA , fué presentado por Gunther Sten y Max Delbrück , señalando tres posibilidades : la semiconservativa , según la cual las bandas nuevas se sintetizarían sobre las originales , una vez que se desenrollaran ; la dispersiva , en la que las cadenas se fragmentarían , para unirse después en la hélice nueva , y la última en la que las cadenas se duplicarían en forma conservativa , pero sin desenrollarse .

Se esperaba que marcando el DNA de microorganismos con fósforo radioactivo , se llegaría a distinguir cual de las tres posibilidades era la real , pero no se obtuvieron resultados significativos hasta que Mathew Meselson y Franklin Stahl , en 1958 , introdujeron una variante al marcaje radioactivo , con lo cual en base a sus diferencias en densidad se reconocerían las cadenas del DNA , del DNA marcado . Lo que se efectuó cultivando los microorganismos en un medio rico en un isótopo de un elemento esencial , en tanto la generación siguiente se cultivaría en un medio normal y posteriormente se separarían los dos tipos de DNA por centrifugación .

Inicialmente pensaron emplear el agua pesada para introducir el deuterio , pero encontraron una base parecida a la timina , que presentaba un sustituyente (5-bromo uracilo) y que era incorporada fácilmente por el microorganismo , pero como los fagos se rompían con la centrifugación , Meselson pensó preparar una solución salina sobresaturada en la que flotara el DNA , y así creó el método de centrifugación de gradiente de concentración . Eligiendo el cloruro de cesio , para obtener una solución de alta densidad , que al centrifugarla a 45 000 rpm , por dos horas , presentó un gradiente de concentración , haciéndose más densa hacia abajo . En esta solución se centrifugó el DNA y sus componentes se separaron en las diferentes zonas de acuerdo a su densidad . (23)

Posteriormente , Meselson y Stahl , abandonaron el DNA del fago , para trabajar con Escherichia Coli , como fuente de ácidos nucleicos , efectuando ahora el marcaje con N^{15} en la forma de cloruro de amonio , adicionándolo al medio donde se cultivaron varias generaciones de E. Coli , las que incorporaron el N^{15} a las bases de su DNA , enseguida tomaron una muestra y la sembra-

ron en un medio de cloruro de amonio con nitrógeno normal y después de varias generaciones tomaron una muestra .

Con el fin de obtener estandares de comparación cultivaron E. Coli en un medio normal , después centrifugaron las tres muestras , adicionando de -tergente para eliminar las membranas , dejando en libertad los tres tipos de -DNA , tomándose una porción de cada uno y centrifugando por separado a 4 770rpm en una solución de CsCl , con un gradiente de concentración , por 20 hrs.

Finalmente el DNA pesado apareció en la parte inferior . en la zona más densa , en tanto el DNA ligero formaba una banda en una zona de menor densidad , después mezclaron ambas muestras y al centrifugarlas se separaron como dos bandas localizadas una en la parte superior y la otra en el fondo . (23)

Tomando esta prueba como referencia , si la duplicación fuera semiconservativa , después de la primera generación el DNA contendría una banda pesada y una ligera , al centrifugarlo aparecería en una zona intermedia a los estandares . En el caso de que fuera conservativa , aparecería una zona de DNA pesado y otra de DNA ligero , y por último si la duplicación fuera dispersiva , se encontraría sólo una banda con densidad media .

De esta forma obtuvieron una fotografía , en la cual se podía determinar el grado de hibridización del DNA, en las generaciones subsecuentes con sólo observar su posición con respecto a los estandares , encontrando así que en nuevas generaciones de E. Coli , el DNA pesado disminuía , aumentando el DNA híbrido , en la segunda generación el DNA híbrido y el DNA sin marcar alcanzaban las mismas proporciones . Lo cual indicaba una duplicación semiconservativa , -concordando perfectamente con la estructura propuesta por Watson y Crick .

Mientras tanto R. Franklin , abandonaba el King's college y con ello el estudio cristalográfico del DNA , se encontraba trabajando con A. Klug , sobre la estructura del virus del mosaico del tabaco , de la que hizo gigantescos avances antes de morir de cancer en 1958 . (23)

Por su parte Maurice Wilkins , continuó el estudio cristalográfico de las formas A y B , lo que le permitió reconocer la presencia de la estructura B en todos los seres vivos , y después de siete años de intenso trabajo , lo gró mejorar la estructura propuesta por Watson y Crick .

No obstante Wilkins se encontraba profundamente decepcionado , por

lo que Sir Lawrence Bragg , miembro de gran importancia en el comite del premio Noble , hizo uso de toda su influencia para que Watson y Crick , junto con Wilkins , recibieran el reconocimiento a su labor . Así el 10 de diciembre de 1962, el rey Gustavo Adolfo VI de Suecia , entrego el premio Nobel en medicina a Francis Crick , James Watson y Maurice Wilkins , por la dilucidación de la estructura del DNA , en tanto Max Perutz y John Kendrew , habían obtenido el premio en química por la resolución de la estructura de la mioglobina y la hemoglobina .

Aunque Rosalind Franklin , no pudo recibir el premio , la doble hélice había decifrado la clave de la vida , como una recompensa a todos aquellos que como ella dedicaron su vida al estudio del DNA .

Nuevos progresos

Ultimamente ninguna área de la bioquímica ha resultado más exitante , como el estudio de los ácidos nucleicos . Durante los dos últimos años , se han hecho grandes progresos , particularmente lo relacionado a las secuencias interpuestas en genes , y los experimentos del DNA recombinante han llevado a importantes avances y aún más a la manipulación biológica .

Mediante las técnicas de secuenciación para el DNA , se ha revelado que los organismos superiores algunas veces intercalan espacio en blanco dentro del contexto de un mensaje . Nadie ha encontrado una explicación de porque los genes de organismos superiores , aquellos que contienen un núcleo definido , presentan secuencias interpuestas , llamadas "introns" .

Hoy se sabe que genes correspondientes a DNA o RNA de tumores virulentos , de la mosca de la fruta , una sección del gene de la hemoglobina de roedores , de inmunoglobulinas , y la conalbúmina , proteina del huevo , se conoce que contienen secuencias interpuestas .

Al principio , algunos investigadores se referían a las secuencias-interpuestas como "regiones sin información" , ahora se les atribuye una función por ejemplo , en algunos casos las mutaciones a lo largo de estas secuencias , interfieren con la actividad del gene . Sin embargo esto se limita a sólo algunos genes del RNA estructural en levaduras .

Muchas de las regiones que presentan segmentos de DNA en blanco o invertida la secuencia , se caracterizan por estar flanqueados por los mismos -

segmentos de nucleótidos a cada extremo , tales segmentos pueden aparearse , — por lo que su presencia podría permitir el ondulamiento y el apareamiento de — segmentos de DNA normalmente separados .

Muchos grupos de investigación buscan las enzimas que reconocen — las secuencias interpuestas , y como el gene es leído y traducido en un produc- to . Conociendo como y en que grado estas enzimas trabajan , se resolverán algu- nos enigmas sobre la función de estas secuencias interpuestas .

Fragmentos con estructura similar , están presentes en otros segmen- tos del DNA , llamados "mutantes" , estas desarrollan en las bacterias genes re- sistentes a los antibióticos , y parecían ser capaces de transportar genes que son vitales para las bacterias en una especie de empaque . Estas cápsulas pue- den ser ejemplos de como ocurren grandes saltos en la evolución , deduciéndose- que varios genes de una fuente pueden liberarse dentro de un huésped , acrecen- tando su capacidad para hacer frente al medio ambiente .

Las nuevas técnicas , en particular los métodos del DNA recombinan- te que se emplean para aislar genes o bien para sintetizar anticuerpos monoclonal- dos altamente específicos , ha tenido un enorme impacto en la bioquímica , pro- porcionando soluciones a problemas biológicos que habían quedado sin resolver .

Mediante esta técnica , han sido clonados muchos genes , esto es , — son tomados de un fondo genético y colocados en otro , para reproducirse . Así muchos genes de mamíferos , como el de la insulina de rata y el de la hovoalbú- mina de pollo han sido clonados en bacterias (E.Coli) . Ultimamente , mediante técnicas más elaboradas que incluyen levaduras , virus de simio y ciertos virus de plantas . Lo que hace factible que genes de otros organismos puedan ser im- plantados , portados y replicados en el interior de la levadura .

Mediante el empleo de anticuerpos monoclonados , los que pueden ser reactivos altamente específicos , los bioquímicos están descubriendo que pueden analizar químicamente las enormes moléculas de proteína y determinar su sitio - activo . Lo que ha abierto la puerta a las vacunas y hormonas sintéticas . Así las vacunas contra una enfermedad viral , sería inyectada junto con el virus - inactivado , o bien con la proteína viral . Este procedimiento puede ser contra- rrestado por medio de péptidos sintéticos que acarrean los antígenos necesarios para liberar los anticuerpos .

DESCUBRIMIENTO DE LAS VITAMINAS

La historia de la vitaminas tiene su origen en los comienzos del siglo XVII , en 1601 , cuando Sir James Lancaster , erradico el escorbuto entre los marineros de la Compañía de Indias Orientales , mediante la ingestión de frutas cítricas , por lo que se hizo obligatorio en la Armada Británica el tomar zumo de limón . (27)

Posteriormente , en 1882, Kanchiro Takaki , pudo suprimir el beri-beri de la Armada Japonesa , con sólo introducir el consumo de carne fresca en la comida . (31)

En 1890, el fisico sueco Christian Eijkman , trabajando en Java observó , en las aves sometidas a una dieta de arroz descascarillado , una enfermedad caracterizada por un debilitamiento general y lesiones en el sistema nervioso periférico , y a la que llamó polineuritis gallinarum y cuyos efectos podían evitarse al añadir a la dieta el arroz con su cascarilla . Como este mal también se presentaba al consumir almidón , Eijkman supuso que este debía transformarse a una toxina en el estómago , causando la degeneración del sistema nervioso , y desde un principio se esforzó por encontrar una relación de este mal de las aves y el beri-beri de los humanos . En base a ello en 1896 , Voderman , encontro que el beri-beri era más frecuente en los prisioneros que al igual que las aves comían arroz descascarillado . (16)

Con ello surge un gran interés por determinar que substancia producía tales enfermedades , así entre 1890-97 , se realizan los principales esfuerzos por obtener la substancia antineurítica , presente en la cascarilla del arroz . (27)

En 1901 , Grijns G. , señaló que estas enfermedades no tenían su origen en una toxina , sino en una deficiencia alimenticia , más tarde , en 1906 cuando permanecía en la especulación el origen de estas enfermedades F.G. Hopkins las atribuye al factor dietético de la cascarilla del arroz .

Un año más tarde (1907) , en Cristiania (ahora Oslo) Holst A. y T. Frölich , lograron inducir el escorbuto en los conejos de indias y como suponían que debía tener un origen similar al beri-beri , centraron su interés en la substancia antiescorbuto (vitamina C) .

Posteriormente , Grijns y muchos otros investigadores intentaron extraer el factor antiberi-beri del arroz , sobresaliendo Casimir Funk , quien lo extrajo con ácido diluido o con alcohol acidulado .

En 1912 , postula su "teoría de las vitaminas" en la que menciona la existencia de una substancia especifica contra cada una de las enfermedades de tipo alimenticio . Habiendo llegado a concluir que la substancia antiberi-beri debía tener una base pirimídica (una amina) , y queriendo remarcar su papel vital les llamo "vitaminas" . (16)

Con tales avances se extendió el interés por las vitaminas , apesar de que no se había demostrado su existencia . Así en 1915 , E.V. Mc Collum y M. Davis , mostraron la diversidad de las vitaminas , mediante el empleo de la rata , encontrando la necesidad de por lo menos dos factores alimenticios para su buen desarrollo : uno presente en los alimentos grasos y el otro en los no grasos , por lo que se les dio el nombre de "factor A liposoluble" y "factor B hidrosoluble" . (27)

Por otra parte E. Mellanby , en 1918 , atribuyó el raquitismo en los perros a la falta de una vitamina liposoluble , similar al factor A , y que se encontraba en el aceite de hígado de bacalao , mas tarde se demostró que era diferente y se le llamo vitamina D .

Poco tiempo después , en 1920 , se reconoció que tanto el factor A como el B , no eran aminas , pero como el término vitamina era ya generalmente aceptado , se le dio al factor A el nombre de vitamina A , en tanto al B , el que fué identificado como la vitamina antiberi-beri , se le asigno el de vitamina B , a sugerencia de J. C. Drummond .

En 1922 , con los trabajos de Mc Collum , Simmonds , Shiley y Becker se encontraron las diferencias entre la vitamina A y la vitamina antiraquitismo .

En este mismo año , Herbert Mc. Lean Evans y K.S. Bishop , reconocieron un nuevo factor que evita la esterilidad en las ratas , llamandole "vitamina E" .

Con el paso del tiempo la substancia contra la polineuritis ha sido llamada con varios nombres , los que han sido reemplazados por el de "tiamina" . (16)

La cristalización de la tiamina en forma pura fué realizada en 1926

por Jansen y Donath , en tanto la dilucidación de su estructura se logró sólo - después de que sus productos de ruptura fueron sintetizados , siendo un esfuerzo conjunto que abarco de 1934 a 1936 , colaborando en ello R.R. Williams y colaboradores en los Estados Unidos , Todd y Bergel en Inglaterra , Windaus y I.G. Farben en Alemania .

En 1926 , J. Golberger y colaboradores , encontraron que en realidad la vitamina B , era un complejo , cuando demostraron la aparición de la pelagra por deficiencia de una vitamina , la cual presentaba una estructura similar a la de la vitamina antiberi-beri , pero era más estable a la temperatura y fué denominada "preventivo de la pelagra" , un año después (1927) , el Accessory Food Factors Committee , llamo a la vitamina antiberi-beri "vitamina B₁" , en tanto al nuevo factor "vitamina B₂" , el que finalmente resulto ser también un complejo vitamínico , cuyo primer componente identificado fué la riboflavina , siendo aislada en estado cristalino por R. Kuhn , P. György , y T. Wagner- Jauregg como una consecuencia de su interés en la vitamina B₂ , encontrando en 1933 , que favorecía el crecimiento en las ratas . Debido a que su origen había sido el huevo , se le llamo "ovoflavina" , más tarde Ellinger y Kaschura la aislaron de la leche , haciendo modificaciones al método de Wagner- Jauregg. (16)

Poco después sugirieron una posible relación entre esta vitamina y la enzima de O. Warburg y W. Christian (coenzima II , NADP) lo que se comprobó cuando L. E. Bocher , reportó la preparación de un concentrado a partir de suero en polvo , el cual era efectivamente en su mayoría riboflavina y estimulaba el crecimiento en ratas deficientes en vitamina B₂ . (16)

Su síntesis fué realizada por primera vez en 1935 , por P. Karrer , K. Schöpp y F. Benz .

El segundo componente del complejo B , fué identificado mediante la experimentación con ratas , las cuales aún habiéndose alimentado con tiamina y riboflavina no alcanzaban un desarrollo normal y presentaban dermatitis , la que desaparecía mediante un extracto de levadura o cualquiera otra fuente de vitamina B . A este nuevo factor le llamo György , "vitamina B₆" , puesto que los terminos de B₃ y B₅ se aplicaban a otras sustancias . (27)

En los años siguientes se intensificaron los esfuerzos por aislarle y así en 1938 , en base a su estabilidad a la hidrólisis ácida y alcalina había

sido aislada del arroz , salvado y levadura .

La estructura de este compuesto fué determinada por F. A. Robinson por degradación y síntesis posterior . En 1939, György le llamó "piridoxina" , quedando en desuso el de vitamina B₆ .

En 1942 , E.E. Snell , mostró mediante el empleo de bacterias del ácido láctico , que no sólo piridoxina sino también el piridoxal y la piridoxamina constituyen la vitamina B₆ , estos últimos como derivados fosforilados . El fosfato de piridoxal fué descubierto en 1944 por E.F. Gale y H.M.R. Epps, como un compuesto necesario para la descarboxilación de aminoácidos , en tanto la piridoxamina -5- fosfato fué descubierta en 1947 , por J.C. Rabinowitz y E.E. Snell por medio de su actividad diferencial sobre el crecimiento de las bacterias del ácido láctico .

El tercer componente del complejo B , se encontró en 1935 , por T.W. Birch , György , y L. J. Harris , y en 1937 , se le identificó con el ácido nicotínico por medio de los trabajos de C. A. Elvehjem y colaboradores. Fué aislado por primera vez de fuentes naturales por H. Suzuki , T. Simakura y S. Otake en el Japon y en Europa por C. Funk , durante sus investigaciones sobre el factor de la cascarilla del arroz , aún que no sospecho su importancia nutricional.

El reconocimiento de su estructura se efectuó alrededor de los años 40 , al ser aislado entre los productos de oxidación de la nicotina con ácido crómico . Su gran importancia fisiológica se encontro cuando O. Warburg , W. Cristian y A. Grelease , descubren que la amida del ácido nicotínico formaba parte de la coenzima II (NADP) , y era funcionalmente esencial en el transporte de electrones . En forma paralela es descubierta en la coenzima I (NAD) , por Von Euler y colaboradores . Su descubrimiento en levaduras y su presencia en extractos de músculo cardíaco , enfatizaron su significado metabólico .

En 1937 , se le consideró esencial en la nutrición a raíz de que C. A. Elvehjem et al . , mostraron que se podía eliminar la "lengua negra" en los perros adicionándolo a la dieta . Simultáneamente P.J. Foust y colaboradores , reportaron el tratamiento de la pelagra en humanos , con esta vitamina . (16)

Entre 1928-38 , alcanza su auge el estudio de las vitaminas , un gran número de vitaminas fueron descubiertas y aún que sólo se conocían sus efectos en animales , se efectuaron grandes esfuerzos por aislarles , por caracte-

rizar su estructura química y por lograr sintetizarlas . (27)

Muchas de estas vitaminas fueron identificadas con sustancias ya conocidas y que no se les consideraba biológicamente activas , así se supo que la vitamina A y el β -caroteno comparten su actividad , se encontraron varias formas de la vitamina D , siendo las más importantes el calciferol , la vitamina D_2 y la D_3 , en tanto la vitamina E , resulto ser el α - tocoferol .

Simultaneamente se diseñaron métodos para determinar la riqueza vitamínica de los alimentos , las propiedades físicas y químicas de las vitaminas, así como el grado de destrucción al someterlas al calor , se logró estimar los requerimientos de un individuo , y lo más significativo fué el llegar a esclarecer su modo de acción . De esta forma en 1937 , Lohmann K. y Schuster P. , encontraron que el ester pirofosfórico de la vitamina B_1 es la coenzima necesaria para la descarboxilación del ácido piruvico , metabolito de gran importancia en la degradación de los carbohidratos .

EL DESCUBRIMIENTO DE LAS HORMONAS

Aunque ya desde la alquimia china se habían preparado extractos de tejidos que presentaban actividad hormonal , y observado sus efectos benéficos sobre algunos padecimientos , no se sospechaba la existencia de substancias biológicas capaces de regular el funcionamiento del organismo, sino que se explicaba esta acción como debida a poderes ocultos . (48)

El bosquejo de lo que hoy día es una hormona , apareció en la literatura en 1775 , en el libro "Recherches sur les Maladies" , de Théophile de Boerdeau , en donde en b́ase a los efectos producidos por los testículos y ovarios , señala que estos ́rganos debían producir los agentes responsables de tales cambios .

Tiempo despús , en los comienzos del siglo pasado , George Gulliver haciendo estudios al microscopio de las glándulas suprarrenales se encontro con partículas esferoidales , tanto en las glándulas como en sus vías de irrigación, lo que le hizo suponer que estas glándulas vertían algo al torrente sanguíneo , cuya función debía ser importante para el organismo humano .

A mediados del siglo XIX , en 1849 , A.A.Berthold , demostró la función endocrina de los testículos , al evitar la atrofia de la cresta en un gallo , mediante el trasplante de los testículos a otra parte del cuerpo . (31)

En esta misma ́poca Thomas Addison , partiendo de la tesis de Cassan de que las glándulas suprarrenales se relacionaban con la aparición del pigmento en la piel , ya que en las personas de raza negra , estas son de mayor tamaño , y motivado por la pigmentación que se presenta en la piel , durante la enfermedad que hoy se conoce como "anemia Addisoniana" , realizó investigaciones sobre la relación entre el mal funcionamiento de las glándulas suprarrenales con esta enfermedad , encontrando lesiones en estas glándulas en algunos casos de anemia perniciosa . Concluyendo que dichas glándulas podían tomar parte en la producción de la sangre , pero sus observaciones no trascendieron por ir en contra de las ideas mecanísticas de la ́poca , según las cuales todo el funcionamiento del organismo se encontraba bajo el control del sistema nervioso . (48)

Estos antecedentes propiciaron la investigación sobre la función de las glándulas suprarrenales , así en 1856 , C.E. Broun Sequard , estudió los

efectos de su extirpación en animales , encontrando que tras practicarles esta operación , sobrevenia la muerte .

Más tarde extendió la idea del poder de las secreciones internas , y en 1889 , anuncia su propio rejuvenecimiento al administrarse un extracto de tejido testicular , introduciendo el concepto de la existencia de un mecanismo químico de control de los procesos biológicos .

El descubrimiento de la adrenalina

En 1895 , el médico George Oliver , encontró - que se producía una constricción en la arteria radial de su hijo , después de - administrarle un extracto de glándulas suprarrenales . (48)

Viajo a Londres a encontrarse con E.A. Schäfer , quien entonces realizaba un experimento para medir la presión sanguínea , inyectaron un poco del extracto a un perro y observaron un notable aumento en la presión sanguínea , - descubriendo así la potente acción de la adrenalina sobre la presión sanguínea.

Posteriormente Oliver y Schäfer , realizaron otros ensayos acerca - del efecto de extractos de varios tejidos , sobre la presión de la sangre , descubriendo la presencia de la "vasopresina" en la glándula hipófisis . Finalmente el principio activo de su extracto , la "adrenalina" o "epinefrina" , fue aislada en 1901 , por Jokichi Takamine , en el Japon , y en forma independiente - por Thomas Bell Aldrich , cristalizandola de un extracto , mediante la adición - de amoníaco concentrado .

La adrenalina fue la primera hormona que se cristalizó y la primera que se logró sintetizar químicamente , en 1904 por Stolz . (48)

En seguida se le trato de emplear en el tratamiento de la anemia Addisoniana , pero sin mucho éxito , y como sólo al suprimir la corteza de las - glándulas suprarrenales se producía la muerte , no así al eliminar la parte medular de estas , donde se localiza la adrenalina , se pensó por tanto que el - origen de la enfermedad debía estar en el mal funcionamiento de la corteza suprarrenal .

El concepto de hormona se desarrolló con los trabajos de William Maddock Baylis y Ernest Henry Starling , quienes en 1902 , descubrieron la secreti - na , la hormona que promueve la producción del jugo pancreático , mostrando que

su producción era estimulada aún cuando se habían cortado las terminales nerviosas del páncreas , dejando sin lugar a dudas el importante papel de las hormonas como mensajeros químicos . En 1905 , Baylis , acuña el término "hormona" , para designar a estas sustancias bioquímicas .

La tiroxina

Desde el siglo XVI , se había observado en las personas que vivían alejadas del mar , el crecimiento excesivo de la glándula tiroides (bocio) . Paracelso , lo asociaba al enanismo y el retraso mental (cretinismo) . (48)

Tiempo después , en 1858 , Schiff , en base a las experiencias sobre la extirpación de las glándulas suprarrenales , intentó la remoción de la glándula tiroides en animales , encontrando que también producía la muerte .

Posteriormente , en 1875 , Sir William Gull , estudió el cretinismo en el Guy's Hospital de Londres , y en base a estudios similares , en 1884 , Horsley , reafirmo que estas alteraciones se debían a la supresión de la secreción de la glándula tiroides . Lo que fué comprobado en 1891 , por G.R. Murray , al lograr el tratamiento de esta enfermedad mediante la administración de extractos de tejido tiroideo , lo que aunado a la eficiencia del yodo , en el tratamiento de ciertos casos de bocio , hizo pensar en la presencia de este elemento en la glándula o bien en su secreción . Hasta 1896 , Baumann , comprobó este hecho , revelando que el tejido tiroideo contenía del 0.05 al 0.45% de yodo .

En 1912 , el yodo fué aislado de las esponjas de mar por Bernard Courtois , y se le aplicó en el tratamiento del bocio , pero tuvo que ser abandonado por ser muy peligroso .

La tiroxina , el derivado yodado de la hormona tiroidea , fué obtenida en 1914 , por Edward Calvin Kendall , su estructura se determino en 1925 , por C.R. Harrington , y en seguida (1926-27) la sintetizó en colaboración con Barger .

Otra de las enfermedades que se conocía desde mucho tiempo atrás , pero si poder determinar su origen , era la diabetes mellitus . Los primeros estudios sobre esta se efectuaron hasta (1889-90), como una consecuencia de los trabajos de Joseph Von Mering y Oscar Minkowski , sobre el papel del páncreas en la degradación de las grasas , y quienes decidieron probar que efectos causa

ba la extirpación de este órgano en animales , encontrando que después de reali-
zar esta operación sobre un perro , se producía en el animal un cuadro similar
a la diabetes , debido a un aumento considerable de azúcar en la sangre .

Por su parte Minkowski , realizó estudios sucesivos , en los que lo
gró reproducir la diabetes en varios animales , intentando contrarrestar los -
efectos diabeticos por medio de la administración de extractos de tejido pan --
creático , pero sin gran éxito . (48)

Tiempo más tarde , en 1900-1901, E.L. Opie , observó que en los pa -
cientes con diabetes mellitus se presentaban alteraciones en los islotes de Lan-
gerhans * del páncreas , pensando que la diabetes se debía a una hormona produ-
cida por los islotes , por lo que en 1909 , J. de Meyer , le dio el nombre de -
"insulina" .

Sin embargo todos los intentos por aislarla fracasaron , hasta 1921,
en que el cirujano Frederic Grant Banting , dedujo que la hormona debía degra -
darse con la acción de las enzimas presentes en el extracto pancreático . pen -
sando en la posibilidad de evitar su destrucción ligando el conducto por el que
fluye el jugo pancreático . De esta manera , después de consultar a J.J.Macleod,
quien había realizado numerosos trabajos sobre la diabetes , inicio en la uni -
versidad de Toronto sus investigaciones con perros , teniendo como asistente a
Charles Herbert Best . (3)

Banting y Best , obtuvieron un extracto acuoso de tejido pancreáti-
co de un perro al cual se le había ligado el conducto pancreático seis semanas
antes . El extracto fué administrado a los perros que se les había extraído el-
páncreas , seguido de la determinación sucesiva de la concentración de azúcar
en la sangre , empleando para ello los micrométodos introducidos por Bang , en
1913 , para determinar los componentes sanguíneos . Lo que les permitió obser -
var que después de la administración de la insulina , las altas concentraciones
propias del estado diabético , disminuían hasta un estado hipoglicémico .

Como siguiente paso , en 1922 , Banting y Best , introdujeron la --
aplicación de la insulina en forma dosificada , para el tratamiento de pacien -
tes diabéticos .

* llamados así en honor de Paul Langerhans , quien fué el primero en observar -
los en 1869 .

La insulina fué obtenida en 1926 , por Abel , en su forma cristalina , como proteina , y finalmente en 1960 , F. Sanger determino su estructura primaria , -- siendo sintetizada poco despues por Zahn , por Katsoyanis , y por Wang .

Otras hormonas

Trás el éxito obtenido por Banting y Best con la insulina , y partiendo de que las hormonas por ser depositadas directamente en el torrente sanguíneo , debían ser solubles en medios acuosos , se intento preparar extractos acuosos de otras hormonas , así , Herbert M. Evans , preparó en California un extracto acuoso de la parte anterior de la glándula hipófisis , y que estimulaba el crecimiento en animales . (48)

Por otra parte , Aschheim y Zondek , habían encontrado en 1926, en la orina de mujeres embarazadas , una substancia cuyo extracto acuoso contrareestaba los efectos posteriores a la extirpación de los ovarios en la mujer . Así mismo Koch , había encontrado en la orina masculina , una substancia que evitaba los efectos posteriores a la castración .

Posteriormente , entre 1929-1930 , se aislaron las substancias de la orina de las mujeres embarazadas: en USA por Doisy , en Inglaterra por Marrian y en Alemania por Eutenandt , y este mismo aisló la hormona de la orina masculina , encontrando que estas hormonas resultaban ser derivados de los esteroides .

Tiempo después , en 1934 , Ruzicka , sintetizó en Suiza , la androsterona , a partir del colesterol , y posteriormente encontro que estas hormonas son mucho más solubles en solventes orgánicos .

Aislamiento de las hormonas de la corteza suprarrenal

Aunque en 1927 , Rogoff y Stewart , habían preparado extractos acuosos de las glándulas suprarrenales , no obstante todos los esfuerzos por aislarlas fueron vanos . Por lo que en 1930, W.W. Swingle y J.J. Pfeiffer , intentaron extraerlas con disolventes orgánicos, obteniendo extractos alcohólicos , los que eran tratados con benceno y el producto obtenido era disuelto en agua y después inyectado a gatos a los que se les había suprimido las glándulas suprarrenales . El extracto mostró una gran --

eficiencia contra la enfermedad de Addison , manteniendo con vida a los especímenes adre nolactomizados . (48)

El estudio químico de la substancia activa del extracto , fué realizado en Suiza , por Reichstein y en los Estados Unidos por Kendall y Wintersteiner . De esta forma en 1930 , se habían aislado del tejido suprarrenal siete substancias esteroideas , en estado cristalino y todas ellas presentaban actividad biológica .

En 1952 , en la Gran Bretaña , Simpson y Tait , obtuvieron una octava substancia de estas glándulas , la aldosterona , y dos años despues elucidaron su estructura , seguida de su síntesis en colaboración con Reichstein , y Wettstein y colaboradores .

Con ello se supo que la corteza suprarrenal no sólo secreta una hormona , sino que son varios los esteoides secretados bajo diferentes condiciones.

La glándula hipófisis

La investigación sobre esta glándula fué tardía , debido a que su localización en la base del craneo la hace poco accesible .

Hasta 1884, Loeb , al percatarse que los pacientes con tumores en la glándula hipófisis , presentaban además diabetes , asocio esta enfermedad con el mal funcionamiento de la hipófisis . (48)

Después , en 1886 , Marie , observó el crecimiento excesivo de los huesos de la cara y las extremidades , y un año después señala , casi en forma simultanea con Minkowski , la relación entre el mal funcionamiento de la hipófisis y la acromegalia .

Aunque en las primeras extirpaciones de la hipófisis en animales , no se observe ningún cambio , debido a que quizás la remoción fué incompleta .

Mucho después en 1912 , H. Cushing y B. Aschner , se percataron de la interrupción del crecimiento en animales que se les había austraído la hipófisis , por otra parte que la acromegalia se debía a la excesiva producción de una hormona del crecimiento, secretada por esta glándula . Lo que fué comprobado en 1922 , cuando H.N. Evans y J.A. Long , encontraron un incremento en el ritmo de crecimiento , acompañado de una alteración en el ciclo sexual de una rata a la que se le había administrado un extracto hipofisiario de buey .

Los efectos que acompañan a la extirpación de la hipófisis no fueron observados con claridad hasta 1930 , que Philip E. Smith , desarrolló en Berkeley , un método efectivo para la remoción de esta glándula .

Encontrando que dicha intervención en las ratas no era fatal , pero sí producía la atrofia sobre la tiroides , las glándulas de la corteza suprarrenal y las gonadas , así como del crecimiento , pudiendo ser eliminados sus efectos mediante extractos hipofisarios .

Más tarde , los trabajos de varios investigadores , entre ellos , Choh Hao Li , permitieron el aislamiento de seis hormonas de naturaleza proteica a partir del lóbulo anterior de la hipófisis : la corticotropina , la tirotropina y las dos gonadotropinas , una estimulante del crecimiento y la prolactina , que estimula la secreción de leche . Del lóbulo posterior se obtuvieron la vasopresina , que aumenta la presión sanguínea y la oxitocina , que controla el músculo uterino .

Después de determinar su estructura fueron sintetizadas por Du Vigneaud . Entre tanto , en el lóbulo intermedio se encontraron dos variedades de una hormona estimulante de los melanocitos de la piel , lo cual pudiera explicar el oscurecimiento de la piel en la anemia Addisoniana . (46)

Nuevos progresos

En 1975 , fueron descubiertos varios péptidos llamados encefalinas , y que se asocian al receptor del opio en el cerebro . La estructura de estos , que son péptidos de cadena corta , se ha encontrado dentro de péptidos de mayor tamaño (endorfinas) , y que también presentan efectos opiáceos .

Su descubrimiento causó gran impacto , al traer consigo el descubrimiento de ciertos péptidos hormonales en el tejido cerebral , y que se consideraban característicos de otros tejidos , por ejemplo , se han encontrado en la superficie cerebral hormonas intestinales como la colecistoquinina y la gastrina y las hormonas adenocorticotropina y del crecimiento, de la glándula pituitaria .

Se desconoce si su presencia tiene algún efecto sobre el cerebro o se debe a una simple aberración del desarrollo embrionario , por lo que varios investigadores han estado especulando sobre un "sistema nervioso neuro-endocr-

no" , el que puede existir para reemplazar al sistema motor - sensorial autónomo . Sin embargo , no se ha podido establecer la presencia o formación de sitios receptores apropiados para estas hormonas en el cerebro .

Abundan otros ejemplos de hormonas y agentes mensajeros que liberan la cascada de hormonas , que se han encontrado fuera de los tejidos sobre los cuales se creía actuaban en forma exclusiva .

(Fox , L. Jeffrey , Chemical & Engineering News , April 17 , (1978) pag. 16-17)

C R O N O L O G I A

Siglo I D.C.	Surge la alquimia en Grecia	ALQUIMIA
Siglo IV a mediados del siglo VII	Se desarrolla la alquimia en Egipto, Zosimo de Panópolis designa - con el nombre de Quemeia (química), al arte sagrado de los sacerdotes para obtener los metales.	
Año 641 D.C.	Se extiende la cultura de Alejandría, con la irrupción de los árabes a Egipto, quedando como herederos de la alquimia.	
Siglo VII	La alquimia se introduce al mundo musulmán, por los viajeros chinos a Bagdad.	
Siglo IX al XVII	Se desarrolla en China el movimiento de la Iatroquímica.	IATROQUIMICA
Siglo XII	Se extiende la alquimia en Europa, al traducirse al latín los textos árabes, en España.	
Siglo XIII al XIV	Trés de haber alcanzado su apogeo, la alquimia es prohibida por la Iglesia.	ALQUIMIA
Siglo XVI	Se inicia el fin de la época de la alquimia.	
Siglo XVI a mediados del siglo XVII	Surge la Iatroquímica en Europa (la química médica).	IATROQUIMICA
1591 - 1609 Hans y Zacharias Jansen (Holanda)	Inventan el microscopio compuesto.	
Siglo XVII	La alquimia entra en franca decadencia.	
1601 Sir James Lancaster (Inglaterra)	Emplea el escorbuto en la Compañía de Indias Orientales.	FRUTO - QUIMICA
1610 Galileo (Italia)	Empieza por primera vez una lente como instrumento científico.	
1624 Jann Faber	Inventa el microscopio óptico.	
1665 Robert Hooke (Inglaterra)	Describe las células del corcho en su "Micrographia".	
1674 John Rayow (Inglaterra)	Sostiene la presencia de un principio vivificante en el aire (aerofino).	

1675 Anton Van Leeuwenhoek (Holanda)	Mejora las lentes del microscopio y con ellas, describe una variedad de fósforos unicelulares.	
Siglo XVIII Victor Haller	Sostiene que el principio estructural de los organismos es la fibra.	
1702 Georg E. Stahl (Alemania)	Formula la teoría del "flogisto".	
1727 Stephen Hales (Inglaterra)	Llegan a la conclusión de que los vegetales se nutren, parcialmente a partir de la atmósfera.	
1757 Joseph Black (Escocia)	Tras haber desarrollado en concepto de calor latente, demuestra que el aire fijo es producido durante la fermentación.	FÍSICO - BIOQUÍMICA
1770 - 74 Joseph Priestley (Inglaterra)	Demuestra que los animales consumen oxígeno.	
1772 Antoine Lavoisier (Francia)	Hecha por tierra la teoría del flogisto.	
1774 Joseph Priestley	Describe el oxígeno (aire deflogistado), señalando su importancia en la respiración.	
1775 Thépophile de Bordeau (Francia)	Denuncia la producción de las hormonas por los órganos corporales.	
1778 Patricius Dugald Leslie	Establece una relación entre el calor animal, el flogisto y la respiración.	
1779 Antoine Lavoisier	Llamo oxígeno al aire deflogistado.	
1779 - 1786 Jan Ingenhousz (Holanda)	Muestra que a medida que se desprende el oxígeno, las plantas consumen CO_2 , y que la luz es esencial para el proceso fotosintético.	
1780 A. Lavoisier y P.S. Laplace (Francia)	Llegan a la conclusión de que la respiración es una combustión lenta.	
1780 A. Lavoisier	Prueba el principio de la conservación de la materia, desarrolla además los primeros métodos de análisis orgánico.	
A. Lavoisier y Berthollet	Establecen por primera vez una relación entre el calor animal y el alimento, basando así las bases para la bioenergética.	
Siglo XIX Francois Xavier Bichat	Presenta al tejido como el principio estructural de todos los organismos vivos.	QUÍMICA FISIOLÓGICA

1800 - 1840	Surge la química orgánica .
1804 T. de Saussure (Francia)	Observa , y mide la estequiometría fija entre la producción de oxígeno y el consumo de CO_2 , en vegetales .
1806 Louis Nicolas Vauquelin (Francia)	Aísla el primer aminoácido , la asparagina , a partir del espárrago.
1809 Michel Eugen Chevreul (Francia)	Desarrolla la metodología para el reconocimiento de los componentes de los seres vivos , considerándosele el fundador del análisis bioquímico .
1816 François Meyerde (Francia)	Demostó el papel fundamental de los alimentos nitrogenados para la vida .
1817 Joseph P. Pelletier (Francia) Joseph B. Chevreul	Dan el nombre de clorofila a los pigmentos de las hojas verdes .
1820 Henri Braconnot (Francia)	Obtuvo la glicina de un hidrolizado de gelatina .
1824 R.J.H. Dutrochet	Concluyó que todos los tejidos vegetales y animales están compuestos de células .
1824 John Dollond (Inglaterra)	Elabora la observación acromática , en el microscopio óptico .
1824 William Prout (Inglaterra)	Muestra la existencia del ácido clorhídrico en el estómago .
1826 P.L. Hanfield	Tras haber realizado el análisis de un gran número de principios — proteínicos , considera por primera vez la biosíntesis de estos principios .
1827 William Prout	Establece que la nutrición completa debe constituirse por : carbohidratos , lípidos y proteínas .
1828 Friedrich Wöhler (Alemania)	Sintetiza la urea , desmintiendo la idea de que los compuestos orgánicos sólo pueden ser sintetizados por los seres vivos .
1830 - 40 G.J. Mulder	Inicia los primeros trabajos sobre las proteínas , en 1838 , acuñando el término "proteína" .

QUÍMICA FISIOLÓGICA

1831 Robert Brown (Escocia)	Comunica la existencia del núcleo celular .
1833 Anselme Payen (Francia) Jean F. Berzou	Obtiene la diastasa a partir de un extracto de malta .
1834 Eberle	Muestra que la digestión es un proceso químico , que puede realizarse independientemente del estómago
1835 Theodor Schwann (Alemania)	Descubre a la pepsina , en el jugo gástrico .
1837 Jóns J. Berzelius (Suecia)	Formula el concepto de "poder catalítico"
R.J.H. Dutrochet	Reconoce que la clorofila es esencial para la producción de oxígeno, por los vegetales .
1838 Matthias Jacob Schleiden (Alemania) Theodor Schwann	Dan a conocer la "teoría celular", sosteniendo que todos los tejidos se componen de células , y que el metabolismo es el resultado de la actividad celular .
M. J. Schleiden	Describe los nucleolos , observados por primera vez en 1781 , por Fontana .
1840 Justus Von Liebig (Alemania)	Indica que la fermentación alcohólica , es sólo una reacción química independiente de las células vivas , pero catalizada por enzimas presentes en los líquidos .
1845 - 50 Julius Robert Mayer (Alemania)	Señala que en los organismos vivos , la energía proviene exclusivamente de los procesos metabólicos .
1846 Hugo Von Mohl (Alemania)	Fue el primero en emplear el término "protoplasma" .
Claude Bernard (Francia)	Confirma la existencia de otras enzimas responsables de la digestión.
1849 A.A. Berthold	Muestra la función endocrina de los testículos .
1850 J.V. Liebig	Clasifica las sustancias orgánicas en: carbohidratos , lípidos y proteínas .

QUÍMICA HISTÓRICA

1850 Thomas Addison (Inglaterra)	Relaciona la lesión de las glándulas suprarrenales y la anemia perniciosa .	
1851 - 64 Louis Pasteur (Francia)	Prueba que la fermentación alcohólica es causada por microorganismos desechando la hipótesis de la generación espontánea .	
1856 C.E. Brown - Séquard	Estudia los efectos de la extirpación de las glándulas suprarrenales.	
1857 R.A. Von Kölliker (Suiza)	Descubre las mitocondrias en el músculo .	
Christian F. Schönlein (Alemania)	Establece la base de la oxidación biológica en la transformación del oxígeno a ozono .	
Claude Bernard	Ligó atar el glucógeno del hígado , mostrando así la función glucogénica de este órgano .	
1858 Rudolf Virchow (Alemania)	Estableció que todas las células provienen de células preexistentes .	
1860 Rudolf J.E. Clausius (Alemania)	Escritura al oxígeno activo como el responsable de la oxidación biológica .	QUÍMICA FISIOLÓGICA
1861 Max J.S. Schultz (Alemania)	Definó la célula como sustancia viva provista de núcleo y membrana celular .	
1862 Julius Von Sachs (Alemania)	Prueba que el almidón se sintetiza durante la fotosíntesis .	
1865 Julius Von Sachs	Estableció que la clorofila se encuentra en cuerpos especiales , que sólo se forma clorofila en la luz , y que la absorción de CO_2 dependía también de la luz .	
Carl Viot Max Rubner (Alemania)	Muestran que los alimentos no se usan directamente al oxígeno , durante el metabolismo , sino que forman una serie de compuestos intermedios antes de su oxidación completa .	
1870 - 1890	La química fisiológica se separa de la química , para transformarse en la bioquímica .	

1871 Johann F. Niescher (Suiza)	Descubre el DNA, llamándole nucleína.	
1872 E.F.W. Pflüger	Encuentra que el oxígeno absorbido en los pulmones, es consumido en parte por todos los tejidos.	
1876 William Kühne (Alemania)	Logra aislar la tripsina.	
1877 E.F.W. Pflüger	Muestra que el oxígeno no es la causa directa del metabolismo, y que los procesos metabólicos se realizan en el interior de la célula.	
Botitz Traube (Alemania)	Propuso que las enzimas poseían una naturaleza similar a las proteínas.	QUÍMICA FISIOLÓGICA
1878 William Kühne	Aquí el nombre de "enzima".	
Nicolas L. Sadi Carnot (Francia)	Da a conocer el principio de la conservación de la energía.	
Ernest F.I. Hope-Seyler (Alemania)	Presenta al oxígeno atómico como el agente oxidante, en los sistemas biológicos.	
1881 Nikolai Ivanovich Lunin (Rusia)	Señala la necesidad de añadir suplementos alimenticios a la dieta.	BIOQUÍMICA MODERNA
Rudolph A. Von Kolliker (Suiza)	aisla la mitocondria.	
Kenzhiro Takaki (Japan)	Suprime el beri-beri en la armada japonesa, mediante el consumo de carne fresca.	
1883 Julius Robert Mayer (Alemania)	Aplica el principio de la conservación de la energía a la nutrición vegetal, describe por primera vez la estructura del cloroplasto.	
Schimper	Crea el nombre de cloroplasto para los cuerpos especiales de Sachs.	
1884 Engelmann	Demuestra la absorción de la luz y el desplazamiento de oxígeno en el interior del cloroplasto.	
Horsley	Señala que el síndrome no debe a la supresión de la hormona tiroidea.	

1887 Marie , O . Minkowski	Señalan la relación entre la acromegalia y las lesiones sobre la - glándula hipófisis.	
1889 Richard Altmann	Introduce el término "ácido nucleico" .	
1889 - 90 J. Von Mering O. Minkowski	Establece el origen de la diabetes , en el mal funcionamiento del - páncreas .	
1890 R. Altmann	Encuentra que las mitocondrias se tiñen selectivamente con fucsina, y sugiere que son estructuras celulares autónomas .	
Christian Eijkman (Holanda)	Descubre la vitamina B ₁ (tiamina) .	
1891 G.R. Murray	Trato el síndrome con extractos de tejido tiroideo .	
1894 Emil Fischer (Alemania)	Formula la correspondencia mutua entre enzima y sustrato , como - la llave y la cerradura .	
J. Von Sachs	Señala la aparición del almidón , en los cloroplastos después de la absorción de CO ₂ .	BIOQUIMICA MODERNA
1895 George Oliver (Inglaterra)	Descubre la adrenalina .	
Eugen Baumann (Alemania)	Obtiene la tiroxina .	
1897 Eduard Buchner (Alemania)	Demuestra que las reacciones celulares se producen con la ayuda de - enzimas .	
Bertland	Introdujo a la bioquímica el término de coenzima o cofactor .	
1898 C. Bendz	Da su nombre a las mitocondrias .	
Camillo Golgi (Italia)	Descubre el sistema de membranas que lleva su nombre (aparato de Gol- gi) .	
1900 Leonor Michaelis (Alemania)	Menciona que las reacciones de oxidoreducción de las células se - efectúan en las mitocondrias .	

1900 - OI E.L. Opla	Relaciona la diabetes con el daño en los islotes de Langerhans del páncreas.	
1901 Jokichi Takamizawa (Japón)	Aísla la urea y la creatinina de las glándulas suprarrenales.	
1902 H.E. Fischer	Desarrolla la química de los carbohidratos y sintetiza la purina.	
A.J. Brown	Realizó los primeros estudios sobre la cinética enzimática de la sacarasa, sobre el azúcar de caña.	
1904 Friedrich Stolz	Sintetiza la adrenalina, nombre de la epinefrina.	
1906 Arthur Harden (Inglaterra) W.J. Young	Comprueban la existencia de las coenzimas en el zumo de la levadura.	
1907 Emil Fischer	mostró que las proteínas son polipeptidos.	
1909 Albrecht Kossel (Alemania)	Realizó los primeros estudios químicos sobre los ácidos nucleicos.	BIOQUÍMICA PURPURA
1912 B.F. Kingsbury	Muestra que la cadena respiratoria se lleva a cabo en la mitocondria.	
O. Warburg (Alemania)	Demuestra que el hierro es esencial para la respiración.	
Casimir Funk (Polonia)	Desarrolla la "teoría de las vitaminas".	
H. Oshing, R. Aschner	Observan el efecto de la glándula hipófisis sobre el crecimiento.	
1913 I. Michaelis	Estructura de una forma general la teoría de la cinética enzimática.	
O. Warburg	Añade el transporte de electrones con la parte granular de las crestas mitocondriales.	
Richard Willstätter (Alemania)	Aísla la clorofila y posteriormente determina su estructura.	
1914 Edward Calvin Kendall	Obtiene en forma cristalina la tiroxina.	
1915 K.V. Mc. Collum (U.S.A.) H. Davis	Muestran la diversidad de las vitaminas, introduciendo el factor A liposoluble y el B hidrosoluble.	

- 1916 Emil Abderhalden
Hizo grandes contribuciones , sobre la química de las proteínas , -
identificó varios aminoácidos .
- 1918 E. Mellanby
Demostró que el raquitismo en los perros era causado por la falta de
la vitamina D .
- 1920 Thunberg
Descubrió en tejidos animales y vegetales , a las deshidrogenasas ,
indispensables en la oxidación biológica .
- 1920 - 30 O . Warburg
Sostiene que el oxígeno es activado por el átomo de hierro , conteni-
do en el fermento respiratorio .
- 1922 H.M.Evens , K.S.Blaup
Reconocen una nueva vitamina , denominada E
- F.G. Danting (China)
C.H. Best
Obtienen la insulina de un extracto acuoso de páncreas .
- Chamberl H.
Demuestran la existencia de una barrera semipermeable que limita a la
célula .
- 1922- 23 R. Wilmittter (Alemania)
Realiza los primeros trabajos formales sobre la purificación de enz-
imas .
- 1923 Thunberg
Descubre que el CO_2 se reduce y el agua se oxida , durante la foto-
síntesis .
- M . Randall (U.S.A.)
C.N. Lewis
Introduce a la bioquímica los conceptos de energía y entropía , des-
arrollados por Gibbs .
- D. Keilin
Muestra que los citocromos tienen un estado de oxidación alterno ,
durante la actividad respiratoria .
- 1925 E. Carter , F. Groniel
Confirman la presencia de la doble capa de lípidos en la membrana -
celular .
- D. Keilin
Descubre los portadores intermedarios , "citocromos " , que inter-
viene en la cadena respiratoria .

BIOQUÍMICA MODERNA

1926 James Sumner (U.S.A.)	Cristalizó por primera vez una enzima, la ureasa.	
D.C.F. Jansen, W.F. Donath	Logran aislar la treonina en estado cristalino.	
J. Kolberger	Encontró un segundo componente del complejo D, la riboflavina.	
Abel	Cristalizó la insulina.	
1927 Nopoff, Stewart	Preparan los primeros extractos nuevos de las glándulas suprarrenales.	
1928 Frederick Griffith	Observa la inducción de un cambio sobre el pneumococo tipo R, por el DNA del pneumococo S.	
Hans Karl Oelphelt Euler (Alemania)	Aísla los carotenos y muestra que comparten su actividad con la vitamina A.	
1928-30 O. Warburg	Desembla la estructura básica del hemo.	
A. Bant-Cybrgy (Hungría)	Aísla el ácido ascórbico (vitamina C)	BIOQUÍMICA MODERNA
1930 William T. Astbury	Inicia el estudio del DNA, por difracción de rayos X.	
J. H. Northrop (U.S.A.)	Aísla la pepsina y la tripsina, comprueba además la naturaleza proteínica de la enzima.	
W.W. Swingle, J.J. Pfiffner	Controlan la enzima Adenosina, con extractos no nuevos de las glándulas suprarrenales.	
1930-34 E. Ruska (Alemania)	Construye el primer microscopio electrónico.	
1931 V.A. Engelhardt	Muestra que la fosforilación está relacionada al consumo de oxígeno.	
1931-36 O. Warburg	Descubre el HAD, el primer portador intermediario de la cadena respiratoria.	
1932 O. Warburg	Descubre la enzima flavina, la que cristalizó en 1934.	

- 1933 David Keilin Aísla el citocromo c , y reconstruye parcialmente la cadena de transporte de electrones .
- Ebden , Otto Fritz Meyerhof (Alemania) Descubren los intermediarios intermediarios en la glucólisis y la fermentación .
- 1934 R.R. Bensley , H.L. Hoerr Aíslan por primera vez la mitocondria a partir de homogenizados de hígado de puerco .
- 1934-36 Robert R. Williams et al (U.S.A.) Elucidaron la estructura de la tiamina .
- 1934 L. Ruzicka (Suiza) Sintetizó la androsterona .
- 1935 T.W. Birch , P. Dytchy , L.J. Harris Encuentran el tercer componente del complejo B , el cual resulta ser el ácido nicotínico .
- 1935 R. Kühn (Austria) Descubre que la riboflavina (vitamina B₂) es un componente de la enzima amarilla .
- P. Karrer (Suiza) K. Schöpf , F. Benz Sintetizan la riboflavina .
- 1936 F.O. Schmitt , R.S. Bear , F. Folcher Presentan a la membrana celular formada por una bicapa de proteínas y lípidos .
- Wood , Werhman Distinguen en la fotosíntesis la reacción luminosa y la reacción oscura .
- 1937 K. Kohmann , P. Schuster Encuentran que el éster pirofosfórico de la tiamina es necesario como coenzima en la descarboxilación del ácido pirúvico .
- C.A. Elvehjem et al (U.S.A.) Demuestra que el ácido nicotínico es nutricionalmente esencial , al privando la lengua negra en los perros
- Sir Hans Adolf Krebs (Inglaterra) Formula el ciclo del ácido cítrico .
- 1937-39 O. Warburg Demostró la formación de ATP en la glucólisis .

BIOQUÍMICA MODERNA

1937-41 H.M. Kalcker , Bellster	Diseñan métodos cuantitativos para estudiar la fosforilación oxidativa .	
1938 Archivald Vivian Hill (Inglaterra)	Encuentra que los cloroplastos aislados , desprenden oxígeno al ser iluminados , siempre que dispongan de un aceptor de electrones adecuado .	
1939-41 Fritz Albert Lipmann (U.S.A)	Propone el papel metabólico central para el ATP .	
1940 Albert Claude	Inicia los estudios sobre la composición y estructura de la mitocondria .	
Jean Brachet	Detecta la presencia del RNA en el nucleolo .	
Bernardo Alberto Housary et al (Argentina)	Encuentra en efecto entéropico entre la insulina y las hormonas del lóculo anterior de la hipófisis .	
C. V. Ven Noll	Determinó el papel de la luz en la fotosíntesis , por medio de experimentos con bacterias fotosintéticas .	BIOQUÍMICA MODERNA
1940-50 Lucif André M. (Francia) Marcel L. Jacques Jacob Frasson	Muestran la alteración de la actividad de algunas genes sobre otros.	
1941 Ruben , Randall H.A. Kamen , Hyde (Canadá)	Muestran que el oxígeno desprendido durante la fotosíntesis , proviene del agua .	
Salvador Luria , Thomas Anderson (U.S.A.)	Observaron por primera vez un fago , al microscopio electrónico .	
1943-47 Leloir , Muñoz	Demuestran la oxidación de los ácidos grasos en sistemas libres de células : Lehninger muestra el requerimiento de ATP y la estequiometría de la oxidación de los ácidos grasos .	
1944 Oswald Avery (Canadá)	Descubren que el DNA es el portador de la herencia .	

- 1945 Frederick Sanger (Inglaterra) Introdujo el empleo del 2,4 dinitro fluorobenzeno, para la detección de los residuos N-terminales en las proteínas.
- 1946 E. Brund Fue el primero en reportar el análisis completo de una proteína, la B-lactoglobulina.
- 1947-50 F. A. Lipman, Kaplan (U.S.A.) Determinan la estructura de la coenzima A.
- 1948 G.H. Hogeboom, W. Schneider, G. E. Palade (U.S.A.) Muestran el papel de la mitocondria en la respiración.
- S. Moor, W.H. Stein Introducen la cromatografía al análisis de hidrolizados de proteína.
- Melvin Calvin, Benson (U.S.A.) Muestran que el fosfoglicerato es uno de los primeros productos de la fijación del CO_2 , durante la fotosíntesis.
- 1948-50 A. L. Lehninger, Kennedy Muestran que el ciclo del ácido cítrico, la fosforilación oxidativa y la degradación de los ácidos grasos se llevan a cabo en la mitocondria.
- 1949 O. de Duve Descubre el lisosoma.
- 1950 Erwin Chargaff (U.S.A.) Publica sus resultados del análisis del DNA, presenta la proporción 1:1 para las cuatro bases.
- Todd Alexander R. (Escocia) Realizó la síntesis de nucleótidos naturales y las coenzimas de ellos.
- 1950-51 Alfred Hershey, Martha Chase (U.S.A.) Mediante el experimento de la licuadora, prueban experimentalmente el papel del DNA en la herencia.
- 1951 Linus C. Pauling (U.S.A.) Propone la estructura helicoidal para las proteínas.
- A. J. Lehninger Muestra que la fosforilación oxidativa regula el transporte de electrones.
- 1952 H. Dawson, J.F. Danielli Presentan evidencias de la presencia de los lípidos y las proteínas en la membrana celular.

BIOQUIMICA MODERNA

1952 W. S. Vincent Georg Emil Palade (U.S.A.)	Aísla el nucleolo , y realiza un detallado análisis de este organelo. Introduce a la microscopía electrónica , la técnica de fijación con OsO_4 .	
1952-54 Zamcnik et al	Descubren que los ribosomas son el sitio de síntesis de las proteínas .	
1953 F.H.C. Crick (Inglaterra) J.D. Watson (U.S.A.) Frederick Sanger	Presentan la estructura de la doble hélice , para el DNA . Determina la secuencia completa de aminoácidos en la molécula de la insulina .	
1954 G.E. Palade J. A. G. Hixon (Suiza) R. D. P. De Robertis Vincent Du Vigneaud (U.S.A.)	Describe las crestas mitocondriales . Descubre nuevos organelos celulares a los que llamo "microcuerpos". Sugiere que el nucleolo es el sitio de ensamblaje de los ribosomas. Síntetiza la oxitocina y la vasopresina .	BIOQUÍMICA MODERNA
1955-56 Severo Ochoa (U.S.A.) Arthur Kornberg	Síntetizan el RNA y DNA , in vitro , a partir de los correspondientes nucleótidos .	
1956-58 Anfinsen , White	Concluyen que la estructura tridimensional de las proteínas esta -- especificada por la secuencia de aminoácidos .	
1957 Hans L. Kornberg Hayland , Zamcnik , Stepienson	Descubre el "ciclo del glicolato" , una variante del ciclo de Krebs. Aíslan el RNA de transferencia y postula su función .	
1958 Mathew , Meselson Franklin Stahl	Decifran el mecanismo de duplicación semiconservativa para el DNA .	
1960 Max Perutz (Inglaterra) John Cowdry Kendrew	Determinaron la estructura atómica de la hemoglobina y la mioglobina .	

- 1961 F. Jacob , J. Monod ,
J. P. Crangéux
Proponen una teoría para la función y modo de acción de las enzimas alostericas .
- Marshall W. Nirenberg (U.S.A.)
Decifran la correspondencia entre tripletes y los aminoácidos durante la síntesis de proteínas .
- F. Jacob , J. Monod (Francia)
Proponen la hipótesis del operon , y postulan la función del RNA mensajero .
- P. Mitchell (Inglaterra)
Propone la teoría químic-energética , para explicar las transformaciones de la energía en la célula .
- 1961-65 H.W. Nirenberg , H. G. Khorana ,
S. Ochoa (U.S.A.)
Identifican las palabras claves en el código genético para los aminoácidos .
- 1964 J. D. Robertson
Presenta a la "membrana unitaria" , como una estructura común a toda célula .
- 1965 Holley Robert W. (U.S.A.)
Elucida la estructura del RNA de transporte .
- 1967 Harry Reervers , Roland W.
Breidenbach
Dan a conocer del descubrimiento de los glucocorticoides , en células vegetales .
- D. C. Phillips (Inglaterra)
Dedujo la estructura de la lisozima .
- P. Dreyer (Inglaterra)
Paul Kent
Decifran el papel del aparato de Golgi , dentro del metabolismo celular .
- 1972 S. Jonathan Singer
Elabora el modelo de "mosaico fluido" , para las membranas biológicas .

BIOQUÍMICA MODERNA

BIBLIOGRAFIA

1.- Asimov Issac

Biographical Encyclopedia of Science and Technology
Avon Publishers of Bard
New York (1976)

2.- Asimov Issac

Breve Historia de la Química
4^a Edición
Alianza Editorial S.A.
Madrid , España (1980)

3.- Berger Melvin

Biologos Famosos
Editorial Pax-Mexico , Libreria Carlos Cesarman S.A.
México (1970) pag. 56-74 y 196-209

4.- Brachet Jean

Biochemical Cytology
Academic Press Inc. Publishers
New York (1957) pag. 31-36 y 47-60

5.- Brachet, J. and Mirsky , A.

The Cell
Vol. II
Academic Press Inc. Publishers
New York (1961) pag. 299-303

6.- Burke, D. Jack

Cell Biology
The Williams & Wilkins Company
Baltimore , U.S.A. (1970) pag. 49-53

7.- Davison, J.N.

The Biochemistry of Nucleic Acids
3^a Edición
Methuen and Co.
Londres (1953)

8.- Davidson J.N.

The biochemistry of Nucleic Acids
7^a Edición
Cox & Wymen Ltd.
Gran Bretaña (1972) pag. 1-72

- 9.- De Duve Christian
Microbodies in the living Cell
Scientific American 248 : 5 pag. 52-62 May (1983)
- 10.- De Robertis, E.D.P. , Saez, A.F. , De Robertis, E.M.F.
Biología Celular
9^a Edición
Editorial el Ateneo
Buenos Aires (1977) pag. 131,172
- 12.- Dixon Malcolm
Historia de las Enzimas y de las Oxidaciones Biológicas ;
en la Química de la Vida
Fondo de Cultura Económica
México (1974) pag. 61-93
- 13.- Dixon Malcolm and Webb , E.C.
Enzymes
3^a Edición
Academic Press
New York (1979) pag.1-4
- 14.- Du Praw, J. Ernest
Biología Celular y Molecular
Ediciones Omega S.A.
Barcelona , España (1971) pag. 241-260 , 283
- 15.- Dyson, D. Robert
Principios de Biología Celular
Fondo Educativo Interamericana S.A.
U.S.A. (1977) pag. 161-179 , 179-206
- 6.- Florkin , M. and Stotz , E.H.
Comprehensive Biochemistry
Vol. 11 ; Water soluble Vitamins , Hormone , Antibiotics
Elsevier Publishing Company , Inc.
New York (1963) pag.3-47
- Florkin , M. and Stotz , E.H.
Comprehensive Biochemistry
vol.12 ; Enzymes , General Introduction
Elsevier Publishing Company , Inc.
New York (1964)
- Florkin , M. and Stotz , E.H.
Comprehensive Biochemistry
vol. 23 ; Cytochemistry
Elsevier Publishing Company , Inc.
Amsterdam (1966) pag. 41-44

- 19.- Florkin , N. and Stotz , E.H.
Comprehensive Biochemistry
vol. 30 ; A History of Biochemistry
Elsevier Publishing Company , Inc.
Amsterdam (1972)
- 20.- Fox , W. Sidney and Foster , F. Joseph
Introduction to Protein Chemistry
John Wiley & Sons , Inc.
New York (1957) pag. 17 , 144-159
- 21.- Freeland Judson Horace
Acido Desoxirribonucleico 1^a parte
Ciencia y Desarrollo 28 (1979) pag. 131-164
- 22.- Freeland Judson Horace
El ADN ; Clave de la Vida 2^a parte
Ciencia y Desarrollo 29 (1979) pag. 151-182
- 23.- Freeland Judson Horace
El ADN ; Clave de la Vida 3^a parte
Ciencia y Desarrollo 30 (1980) pag. 105-152
- 24.- Fruton , S. Joseph
Bioquímica General
2^a Edición
Ediciones Omega S.A.
Barcelona , España (1961) pag. 122-170 y 193-211
- 25.- Giese , C. Arthur
Fisiología Celular General
4^a Edición
Editorial Interamericana S.A.
Mexico (1975) pag. 265-286
- 26.- Guyénot Emile
Las Ciencias de la vida en los siglos XVII y XVIII
Síntesis Colectiva
La evolución de la Humanidad , tomo C
Unión Tipografica , Editorial Hispanoamericana
Mexico (1956) pag. 95-104 , 112-117 , 143-157
- 27.- Harris , L. Leslie
El descubrimiento de las Vitaminas ;
en la Química de la Vida
Fondo de Cultura Económica
Mexico (1974) pag. 261-283

- 28.- Hill Robert
Fotosíntesis ;
en la Química de la Vida
Fondo de Cultura Económica
Mexico (1974) pag. 42-60
- 29.- Jeans James
Historia de la Física
Fondo de Cultura Económica
Mexico (1970) pag. 36-42
- 30.- Lain Entralgo Pedro
Historia Universal de la Medicina
Tomo V
Salvat Editores S.A.
Barcelona , España (1973) pag. 205-219
- 31.- Leicester , M. Henry
The Historical Background of Chemistry
John Wiley & Sons , Inc.
New York (1961) pag. 33-53 , 53-61 , 62-73 y 230-241
- 32.- Lockemann Georg
Historia de la Química
Tomo I y II
Unión Tipográfica , Editorial Hispanoamericana
Mexico (1960)
- 33.- Maillet , M.
Fundamentos de Citología Animal
Editorial Alhambra S.A.
España (1975) pag. 77
- 34.- Meister Alton
Biochemistry of the Aminoacids
Academic Press , Inc.
New York (1957) pag. 1-14
- 35.- Needham Joseph
La Química de la Vida
Fondo de Cultura Económica
Mexico (1974)
- 36.- Neillands , J.B. and Stumpf , P.K.
Outlines of Enzyme Chemistry
2ª Edición
John Wiley & Sons , Inc.
New York (1958) pag. 1-6

- 7.- Neutra, M. y Leblond, C. P.
El Aparato de Golgi ; en la Célula Viva
2^a Edición
H. Blume Ediciones
Madrid, España (1969) pag. 124-132
- 8.- Novikoff, B. Alex and Holtzman Eric
Estructura y Dinámica Celular
Ediciones Interamericana S.A. de C.V.
Mexico (1978) pag. 96
- 9.- Papp Desiderio y Babini Jose
Biología y Medicina del siglo XIX, serie Historia y Filosofía de la
Ciencia, Panorama Genral de la Historia de la ciencia XI
Espasa - Calpe, Argentina S.A.
Buenos Aires (1961) pag. 19-27
- 10.- Postand Jean
Introducción a la Historia de la Biología
Ediciones Peninsula
Barcelona, España (1979) pag. 7-16
- 11.- Sarma, H. Ramaswamy
Nucleic Acid Geometry and Dynamics
Pergamon Press
U.S.A. (1980) pag. 83
- 12.- Schoeder, A. Walter
The Primary Structure of Proteins
Harper & Row Publishers
New York (1968) pag. 47-68
- 13.- Saito Sato
Selected Papers in Biochemistry
Vol. 10 : Mitochondria
University of Tokio Press
Japan (1972)
- 14.- Teich Mikuláš
Los Fundamentos Historicos de la Bioquímica Moderna ;
en la Química de la Vida
Fondo de Cultura Economica
Mexico (1974) pag. 284-314
- 15.- Vickery, H.B. and Schmidt, C.L.A.
Chemical Review 9 : 169 (1931)

46.- Volfin Pierre

La Mitocondria ; Central Energética de la Célula :
en Selecciones de la Recherche en Biología Molecular
Herman Blume Ediciones
Madrid , España (1976) pag. 89-116

47.- Whittinham , C. P.

The Mechanism of Photosynthesis
Herman Blume Ediciones
Madrid , España (1976) pag. 20-62

48.- Young , F. G.

Evolución de las ideas acerca de las hormonas animales ;
en la Química de la Vida
Fondo de Cultura Economica
Mexico (1974) pag. 217-260