

Capítulo 6

ESTABLECIMIENTO DE LOS PRIMEROS CICLOS METABÓLICOS CONOCIDOS

En el capítulo 5 (página 159 y siguientes) hemos hablado del fenómeno general de las rutas metabólicas, de cómo se estableció el concepto de ruta metabólica y del método de ir las estableciendo con el ejemplo de la primera, laboriosamente esclarecida, la fermentación alcohólica y la glucólisis (véanse páginas 172 a 193). El concepto de ruta metabólica es esencial en bioquímica y no sorprende que Neuberger, el mismo que troqueló en 1903 el término de bioquímica y que expuso en 1912 una primera interpretación, todavía errónea en muchas partes pero ya global, de la fermentación alcohólica, fuese quien, ese mismo año, propusiese la denominación de ruta metabólica para expresar el concepto de que en el interior de la célula la transformación química de una sustancia en otra se verifica siempre pasando por la misma serie de moléculas intermedias (entre las numerosas series químicamente concebibles), en virtud de que cada reacción química está determinada por un enzima (por un supuesto catalizador de naturaleza química, de especificidad de acción y de origen entonces desconocidos, aunque la actividad enzimática de los pasos metabólicos podía irse concentrando en fracciones proteicas de homogeneizados celulares).

Veinte años después, esto es, en 1932, Hans Adolf Krebs (1900) descubrió el primer ciclo metabólico (el de la producción de urea por algunas células animales), sin prever la existencia de ciclos por ninguna razón teórica, sino simplemente intentando precisar la ruta de la producción de la urea, ruta a la

que su certera intuición preveía sencilla y abordable, mediante la eficaz técnica de los cortes de tejidos para el estudio del metabolismo celular (ideado por su maestro O. Warburg), y aplicando a su objetivo una capacidad muy destacada en Krebs, de integrar diversas series de transformaciones metabólicas en la ruta completa a que pertenecen y de intentar entender el sentido de la ruta general así establecida en el marco del metabolismo conjunto celular. (Este sentido del conjunto es particularmente notorio en su extraordinaria investigación del ciclo por él llamado del ácido tricarbóxico, que, como luego se expone, no sólo estableció coordinando fragmentos hasta él totalmente desconectados, sino en el que descubre su función de colector de los productos de muy diversas rutas de demolición, y de productor de moléculas con que se inician importantes rutas de síntesis).

I. EL DESCUBRIMIENTO POR KREBS DEL CICLO DE LA UREA (1932)

En «The history of the tricarboxylic acid cycle», *Perspectives in Biology and Medicine*, número 14, 154-170, otoño 1970, Krebs explica que abordó el estudio de la producción intracelular de la urea sin hipótesis de trabajo y simplemente aplicando, con la colaboración de Kurt Henseleit, el método de los cortes de tejido para observar el posible efecto exaltador de la formación de urea causado por diversas sustancias nitrogenadas (amoníaco, aminoácidos, varias aminas, cianato y pirimidinas)*. Quería decidir, por ejemplo, si los aminoácidos impulsaban la formación de urea más que el amoníaco; y otra

* Cuando se planteó Krebs el problema de la producción de la urea, éste todavía ofrecía una novedad esencial, a saber, que en cortes de tejidos se pudiesen verificar procesos metabólicos de síntesis como la de la urea, lo que causó en muchos bioquímicos y fisiólogos, sin excluir a Warburg, una sorpresa que parece que ha de atribuirse, bien a la dedicación propia de la época a la investigación de las rutas de demolición (fermentación alcohólica y glucolisis, respiración celular), bien al peso de la concepción de Claude Bernard de que la demolición es un proceso químico pero que la síntesis intracelular de moléculas orgánicas es algo cualitativamente distinto, vinculado a la vida.

posibilidad que tuvo en cuenta es la de que uno de los átomos de nitrógeno de la urea procediese de aminoácidos y el otro de amoniaco, idea que le llevó a descubrir las elevadas velocidades de síntesis de urea provocadas por la adición simultánea del aminoácido ornitina y de amoniaco, y que la ornitina es un metabolito intermedio en la síntesis. (Hubieron de transcurrir de quince a veinticinco años desde el establecimiento por Krebs de los pasos esenciales del ciclo de la urea, en 1932, hasta puntualizar: *a*) el papel, en el ciclo, del amoniaco —a saber, participar junto a dióxido de carbono y adenosintrifosfato en la notable síntesis metabólica del carbamilfosfato, que entra en el ciclo reaccionando con la ornitina para dar citrulina—; *b*) el papel de los aminoácidos —la entrada en el ciclo del aminoácido aspártico, que a su vez se origina por transaminación a su cetoácido, el oxalacético, de los demás aminoácidos, aspártico que se condensa con deshidratación con la citrulina*, dando el metabolito intermedio argininosuccínico que, a su vez, se descompone en la arginina, metabolito intermedio postulado por Krebs, y fumárico que sale del ciclo.

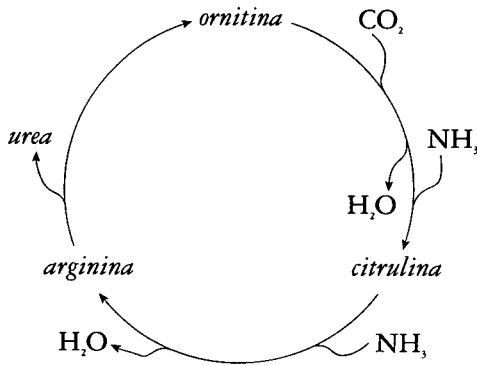
Con estas imprecisiones, que se tardó tanto en desentrañar**, lo cierto es que Krebs, con muy segura intuición, en pocos meses fue ordenando las observaciones que, acerca de los metabolitos intermedios (arginina, ornitina más amoniaco, etc.), consiguió aplicando la técnica de los cortes de tejidos y los contados datos enzimáticos de que disponía (la arginasa que desdobra la arginina en ornitina y urea) y la intuición de que la citrulina, que, con independencia, acababa de ser descubierta por M. Wada (*Biochem. Z.* 224, 420, 1930) y por D. Ackermann (*Biochem. Z.* 203, 66, 1931) podía ser el paso intermedio

* Esta condensación parece exigir la previa tautomerización de la citrulina $\text{R}-\text{C} \begin{array}{l} \text{=O} \\ \text{NH}_2 \end{array}$ en

$\text{R}-\text{C} \begin{array}{l} \text{OH} \\ \text{=NH} \end{array}$ que se condensa, por su hidroxilo, con el aspártico, por su grupo amino, dando el argininosuccínico. Es decir, como es propio de las transformaciones metabólicas, se produce de un modo tan determinado, sutil y complejo que parece exigir la aplicación de acción y experiencia basibiónica especializada.

** Para esclarecerlo fue necesario conocer antes los coenzimas que intervienen en estos pasos, como el ATP necesario para la síntesis del carbamilfosfato que nutre el ciclo en el paso de la ornitina a la citrulina.

entre la ornitina y la arginina. Pues bien, para llegar a una interpretación coherente, Krebs tuvo que encajar, de modo nuevo, en el primer ciclo metabólico, una serie de resultados paradójicos, como son: que la ornitina más el amoníaco exalten la producción de urea; que el antecesor directo de la urea en su síntesis pareciese ser la arginina que se desdobra en ornitina y urea; que en la ruta de síntesis de la urea la ornitina promueva la producción sin consumirse. Todo ello le lleva a postular una ruta de síntesis continua pero cerrada, su ciclo de la urea:



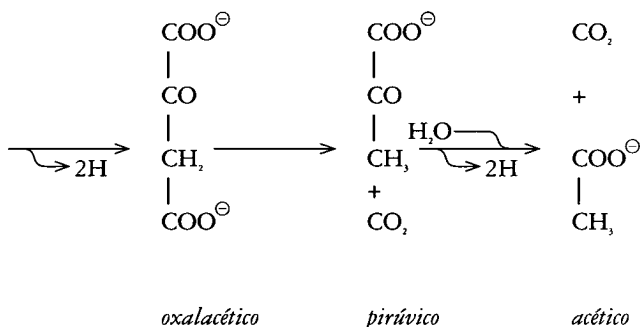
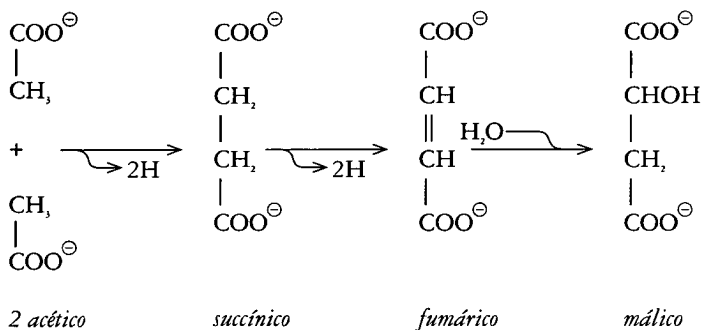
Este descubrimiento, por Krebs, del primer ciclo metabólico conocido, le permitió, cinco años después, culminar su investigación fundamental, según la cual las principales rutas de demolición oxidativa (las diversas de cetoadidos, la de las grasas, la glucólisis) desembocan en un tramo común que: *a*) proporciona hidrógeno a las cadenas respiratorias; *b*) suministra metabolitos que inician las más importantes rutas de síntesis; *c*) constituye asimismo un ciclo, al que denominó ciclo del ácido tricarbóxico. Además, esta ordenación de grandes rutas, que parece constituir un primer esbozo del conjunto del metabolismo celular, fue descubierta en la célula muscular pero se ha observado que es común a todas las células, vegetales, animales y de microorganismos. Sobre la pauta de la revisión histórica que Krebs hizo en 1970 de esta investigación suya, vamos a procurar señalar cómo, aplicando una sobresaliente capacidad de síntesis, él logra describir un conjunto metabólico

unitario, descubriendo, con gran intuición, los nexos notables que se dan entre rutas fragmentarias establecidas antes por bioquímicos eminentes, cuyos logros se elevan así de grado de comprensión. Terminando esto, procuraremos señalar los problemas biológicos que plantea y permite abordar la obra de Krebs.

II. LAS LÍNEAS PRINCIPALES DE INVESTIGACIÓN QUE INDUJERON A KREBS A DESCUBRIR EL CICLO DEL ÁCIDO TRICARBOXÍLICO

Krebs comenzó esta investigación en 1932, a la vez que la de la producción de la urea y, como en ésta, utilizando la técnica de Warburg de los cortes de tejidos (principalmente de riñón y de hígado) para observar qué moléculas exaltaban el consumo de oxígeno y el desprendimiento de dióxido de carbono y podían, pues, considerarse presuntos metabolitos intermedios en las oxidaciones intracelulares; ahora bien, a diferencia de su investigación sobre la producción de la urea, notablemente rápida, sus conclusiones sobre las oxidaciones intracelulares no aparecieron sino tras cinco años de lento desarrollo (H. A. Krebs y W. A. Johnson, *Enzymología* 4, 148, 1937). Comencemos reseñando lo que Krebs encontró como antecedente directo del proceso metabólico que se cumple en el ciclo por él descubierto; dice Krebs:

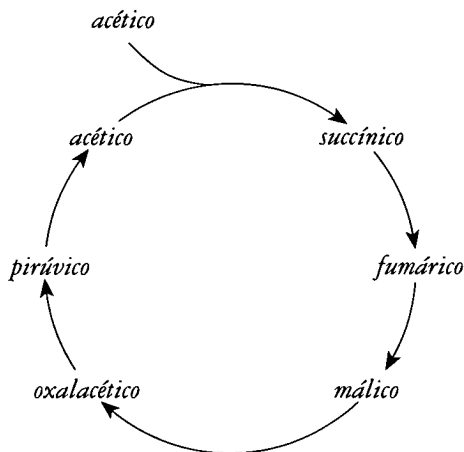
«La única hipótesis que esbozaba una ruta de los pasos intermedios de la oxidación de los carbohidratos fue la avanzada por T. Thunberg (*Skand. Arch. Physiol.* 40, 1, 1920) y sostenida por F. Knoop (*Klin. Wochensch.* 2, 60, 1923) y por H. Wieland (en el *Handbuch der Biochemie* dirigido por C. Oppenheimer. Fünfte Auflage. Bd. 2, 252, 1925). Se supone que dos moléculas de acético —formadas desde láctico a través del pirúvico o por la oxidación de los ácidos grasos— se condensan para formar succínico que es sometido a oxidación dando fumárico, málico, oxalacético y pirúvico que forma una molécula de acético:



Este esquema estaba basado en la oxidabilidad de algunos intermedios postulados, pero no había ninguna prueba en apoyo de la condensación clave, que, como hoy sabemos, de hecho no se produce en las células vivas. Este lado débil y el desconocimiento de la ruta de oxidación de los principios inmediatos eran plenamente aceptados».

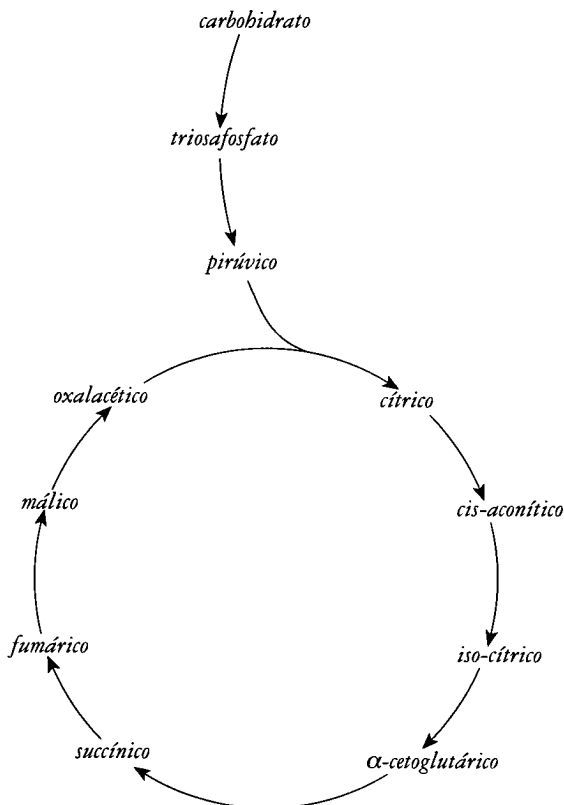
Para ver el gran avance que supone la investigación de Krebs, si hubiese existido, *avant la lettre*, el concepto de ciclo, este conjunto de seis transformaciones metabólicas, verdaderas salvo la condensación de los dos acetatos, pero no bien coordinadas, habrían podido representarse ya entonces en un ciclo erróneo pero que, como el del ácido tricarbóxico, en cada vuelta demoliese una molécula de acetato y la repusiese por otra proveniente de la demolición

de los carbohidratos y de las grasas. Esta representación cíclica, *a posteriori*, de las ideas de entonces sería:



Aparte de la esencial contribución, difícil por inesperada y paradójica, de considerar el proceso de demolición oxidativa como un ciclo (idea que, sin duda, derivó de su previa interpretación de la producción de la urea donde por primera vez dio el concepto de ciclo, de tanta trascendencia en bioquímica) Krebs, aplicando su gran capacidad de coordinar rutas de modo a la vez inesperado y objetivo, hizo dos fundamentales innovaciones de nuestra representación de lo que hubiera sido entonces el esbozo de un ciclo (esto es, una ruta cerrada alimentada por un metabolito venido de fuera, acético como realmente es en el ciclo del ácido tricarboxílico); estas dos innovaciones, notablemente certeras y originales, de Krebs son: *a*) sacar el pirúvico y el acético del ciclo y considerarlos como la cadena de moléculas, que lo alimentan desde fuera, en la que termina la demolición oxidativa de carbohidratos y de ácidos grasos; *b*) descubrir que el metabolito en que termina la rama de demolición oxidativa del ciclo y que se condensa con el acético es el oxalacético, con lo que se produce cítrico; todo lo que, en su esquema, incompleto pero con firme base experimental y básicamente verdadero, publicado en 1937 (H. A.

Krebs y N. A. Johnson, *Enzymología* 4, 148, 1937, y H. A. Krebs, *Lancet*, 2, 736, 1937), se representa así:

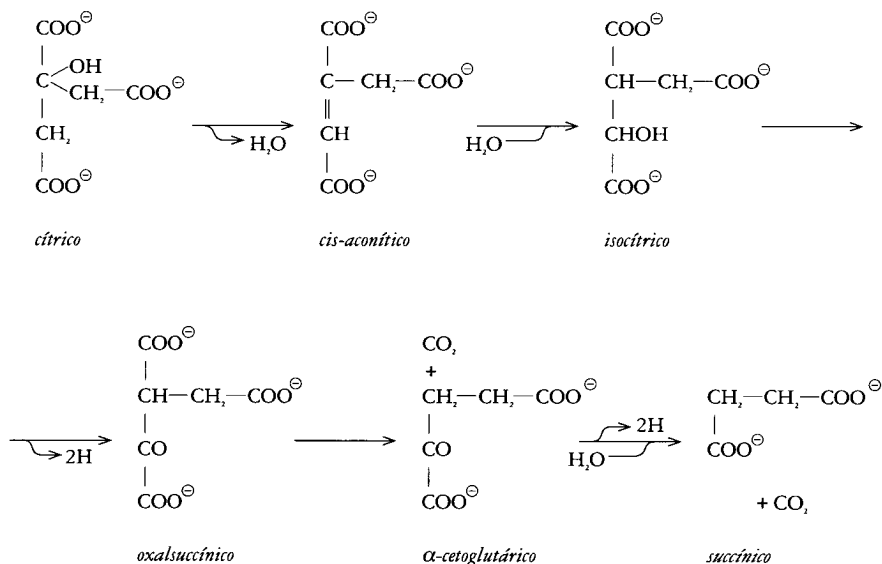


Procuremos resumir el conjunto de descubrimientos ajenos y alguno propio que llevaron a Krebs a establecer su clarividente ciclo. Hemos recordado que la ruta de oxidación *succínico* → *fumárico* → *málico* → *oxalacético* era considerada por bioquímicos anteriores una etapa intermedia en la demolición oxidativa de los carbohidratos. Mediante la técnica de los cortes de tejidos, Krebs confirmó que los cuatro ácidos dicarboxílicos tetracarboxonados

exaltan la respiración celular y son, por tanto, intermedios probables en la demolición oxidativa; lo mismo observó con el acético; ahora bien, no encontró el vínculo entre, por una parte, los tres pasos metabólicos sucesivos, y, por otra, la degradación inicial de los carbohidratos (la glucolisis que desemboca en pirúvico) o la de los ácidos grasos; observó que también el ácido cítrico acelera la respiración celular, sin encontrar tampoco ningún nexo metabólico entre este ácido tricarbóxico y los cuatro dicarbóxicos conocidos.

En fin, en 1935 y 1936, Szent-Györgi hizo una serie de publicaciones sobre la respiración en suspensiones de músculo desmenuzado de pechuga de palomo (músculo que requiere mucha energía y, por tanto, de una capacidad de oxidación excepcionalmente alta; A. V. Szent-Györgi, *Z. Physiol. Chem.*, 236, 1, 1935, y 244, 105, 1936); observó que pequeñas cantidades de succínico, fumárico y málico exaltan el consumo de O_2 y la producción de CO_2 mucho más de lo que corresponde a la cantidad de metabolito añadido y también que el oxalacético se reduce fácilmente a málico incluso anaerobiamente. Estos hechos, que, desde Krebs, se explicarían por la rápida ruta cíclica, llevaron a Szent-Györgi, en un tiempo en que todavía no estaba bien en claro la función de los piridinucleótidos ni de las flavoproteínas en la cadena respiratoria, a sacar la conclusión equivocada de que el sistema málico-oxalacético forma parte de la cadena respiratoria aceptando y dando alternativamente hidrógeno, esto es, ejerciendo un papel de catalizadores (nosotros diríamos coenzimas basibiónicos) en la transferencia de hidrógeno hacia oxígeno molecular. Ahora bien, la interpretación de Szent-Györgi no explica el obvio papel del succínico en la respiración celular (así, el hecho de que la inhibición de la succinodeshidrogenasa —por ejemplo, por malónico— inhiba la respiración). Es claro que tanto la elucidación de la cadena respiratoria, iniciada por Warburg y por Keilin, como el establecimiento del ciclo del cítrico por Krebs impusieron, en contra de las suposiciones de Szent-Györgi, que el trayecto metabólico succínico \rightarrow fumárico \rightarrow málico \rightarrow oxalacético es una genuina ruta metabólica cuyos miembros se transforman todos en un solo sentido (el de la degradación oxidativa), con la particularidad, que descubrió Krebs, de formar parte de un ciclo que se ceba continuamente desde varios puntos de él.

Para la investigación emprendida por Krebs, del modo de producirse la demolición oxidativa, más en concreto, del nexa entre la glucolisis y la cadena respiratoria, constituyó una clave rápidamente decisiva el descubrimiento de la ruta metabólica de oxidación del cítrico por C. Martius y F. Knoop (*Z. Physiol. Chem.*, 246, 1, 1937, y 247, 4, 1937). Krebs, que, como se ha expuesto, sabía que el cítrico exalta la respiración celular, había intentado inútilmente entender cómo se verifica su degradación oxidativa. Martius y Knoop descubrieron que el cítrico se isomeriza, a través del cis-acónítico, a isocítrico, de cuya deshidrogenación resulta oxalsuccínico que se descarboxila dando α -cetoglutárico, que, a su vez, se hidrata con deshidrogenación sucesiva y se descarboxila rindiendo succínico, todo según esta serie de reacciones*:



* La primera línea de la ruta que sigue, de demolición del cítrico, constituye un ejemplo, no por ser bastante frecuente en el metabolismo celular, menos notable, de lograr isómeros convenientes para iniciar un trayecto metabólico con el producto final de otro. Consiste en deshidratar un alcohol creando un doble enlace y en rehidratar éste pero dejando el hidroxilo en el carbono inmediato al que antes lo tenía. Este doble acto, sin sentido químico en sí, que parece obedecer a un propósito, no puede explicarse sino conducido por acción y experiencia basibiónica.

Hoy resulta extraño que Martius y Knoop, tan lúcidos para desentrañar la demolición metabólica del cítrico a succínico, estuvieran tan ciegos para no percibir la trascendencia de su descubrimiento para todo el proceso conjunto de la demolición oxidativa. En cambio, Krebs, sin duda alertado por su propia problemática (el nivel de la problemática propia —me refiero, claro es, a la problemática resoluble— da quizá la medida más precisa de un investigador), percibió, en cuanto Martius y Knoop publicaron sus resultados, toda la trascendencia de éstos para establecer la fase central de todo el proceso de la demolición oxidativa que canaliza las fases iniciales, entonces conocidas, de ésta (la glucólisis de los carbohidratos, la degradación de las grasas) hacia la fase terminal, la respiración celular, a la sazón estudiada intensamente. Krebs sabía que el cítrico estimula enérgicamente la respiración celular y pronto confirmó que lo mismo hacen los otros tres ácidos tricarbónicos y el α -cetoglutárico, lo que le sugirió en seguida que la serie de transformaciones metabólicas descubiertas por Martius y Knoop, que empieza en el cítrico y termina en el succínico, es el trayecto inicial de la ruta antes establecida que empieza en el succínico y sigue hasta el oxalacético (la respiración celular es frenada por malónico que inhibe la actividad de la succinodeshidrogenasa e interrumpe, por tanto, el paso de succínico a fumárico). En muchas de todas estas transformaciones metabólicas se libera hidrógeno capaz de alimentar las cadenas respiratorias; le faltaba a Krebs entender cómo esta ruta central, constituida por los metabolitos intermedios que son los tres ácidos tricarbónicos hexacarbonados (cítrico, cis-aconítico, isocítrico) uno dicarbónico pentacarbonado (α -cetoglutárico) y cuatro dicarbónicos tetracarbonados (succínico, fumárico, málico y oxalacético) está conectada con las fases iniciales de la demolición oxidativa de carbohidratos y de grasas. La respuesta (el cierre de un segundo ciclo y su alimentación) se la sugirieron asimismo Martius y Knoop, que un año antes habían observado que se forma cítrico, *in vitro* y sin aplicar enzima, a partir de oxalacético y de pirúvico tratados por peróxido de hidrógeno en medio alcalino (C. Martius y F. Knoop. 2. *Physiol. Chem.*, 242, 1, 1936). Krebs no tuvo sino que demostrar que la síntesis de oxalacético y pirúvico a succínico se produce asimismo y a suficiente velocidad por cortes de tejidos y por músculo desmenuzado, con lo que, junto con su concepto de ciclo

metabólico, tuvo todos los datos necesarios para entender que la fase central de demolición oxidativa es (como la producción de la urea) otro ciclo que se cierra desde el oxalacético al cítrico con toda probabilidad mediante acético, que alimenta el ciclo y que es rendido por la demolición de los ácidos grasos o por la deshidrogenación del etanol, resultado de la descarboxilación del pirúvico, metabolito terminal de la glucolisis. En su revisión histórica del establecimiento del ciclo del ácido tricarboxílico, Krebs señala que dejó dos pasos metabólicos sin esclarecer por la falta de conocimientos de su época, a saber, el proceso enzimático que transfiere acetilo (sin duda proveniente de la descarboxilación y deshidrogenación del pirúvico) al doble enlace del carbonilo del oxalacético dando cítrico, y el proceso enzimático que, por descarboxilación y por hidratación y deshidrogenación, transforma el α -cetoglutárico en succínico. Como dice Krebs en 1970, su esquema de 1937 ha resistido la prueba del tiempo que entre tanto había colmado las dos lagunas, en cada una de las cuales se verifica una actividad enzimática compleja (imposible de concebir sin ser conducidos por acción y experiencia basibiónica) en que son manejados varios coenzimas. La solución de ambas lagunas hubo de esperar al descubrimiento, diez años después, del coenzima A (coenzima usado por muchas funciones enzimáticas para la transferencia de grupos acilo y, principalmente, acetilo) por Lipmann (F. Lipmann, N. O. Kaplan, G. D. Novelli, L. C. Tuttle y B. M. Guirard, *J. Biol. Chem.*, 167, 869, 1947; N. O. Kaplan y F. Lipmann, *J. Biol. Chem.*, 174, 37, 1948; y F. Lipmann, N. O. Kaplan, G. D. Novelli, L. C. Tuttle y B. M. Guirard, *J. Biol. Chem.*, 186, 235, 1950). En los años siguientes, Ochoa y Lynen establecieron que el coenzima A es utilizado como receptor y dador de acetilo del pirúvico al oxalacético, bajo la actividad muy compleja de la piruvatodeshidrogenasa (J. R. Stern y S. Ochoa, *J. Biol. Chem.*, 179, 491, 1951; Id. 191, 161, 1951; S. Ochoa, J. R. Stern y M. C. Schneider, *J. Biol. Chem.*, 193, 691, 1951; F. Lynen y E. Reichert, *Angew. Chem.*, 63, 47, 1951; y J. R. Stern, S. Ochoa y F. Lynen, *J. Biol. Chem.*, 198, 313, 1952). Poco después se descubrió que el coenzima A también es utilizado como aceptor del succínico producido por la cetoglutaratodeshidrogenasa y como transferidor de él como succínico a la succinatodeshidrogenasa,

que lo transforma en fumárico (S. Kaufman, *Fed. Proc.*, 12, 704, 1953, y D. R. Sanadi y J. W. Littlefield, *J. Biol. Chem.*, 201, 103, 1953).

Por último, a partir de 1943 se han ido acumulando pruebas de que el llamado por Krebs ciclo del ácido tricarboxílico es el colector general de productos de la demolición oxidativa de los tres principios inmediatos. Se comenzó observando, gracias principalmente al uso de isótopos radiactivos, que no sólo los hidratos de carbono, sino también los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos pueden proporcionar átomos de carbono para la síntesis de cítrico (F. L. Breusch, *Science*, 97, 490, 1943; F. L. Breusch, *Enzymologia*, 11, 169, 1943; H. Wieland y C. Rosenthal, *Liebigs Annalen*, 554, 241, 1943) y Lynen y Ochoa puntualizaron la formación de acetil-coenzima A a partir de ácidos grasos y cuerpos cetónicos (F. Lynen *Fed. Proc.*, 12, 683, 1953; F. Lynen y S. Ochoa, *Biochim. Biophys. Acta* 12, 299, 1953), trabajos gracias a los cuales el ciclo del ácido tricarboxílico ha quedado establecido como la ruta terminal de la demolición oxidativa de los principios inmediatos esencialmente energéticos. Además, se ha ido observando que afluyen a diversos puntos del ciclo los metabolitos resultantes de las rutas de demolición de los α -cetoácidos derivados por desaminación de todos los α -aminoácidos, y que, a la inversa, desde sus metabolitos intermedios se inician las sendas rutas de la síntesis de cada uno de ellos. Si, generalizando el descubrimiento de Krebs, consideramos que la ruta de demolición y la de síntesis de cada cetoácido constituye un ciclo, el ciclo del ácido tricarboxílico podría ofrecérsenos como un cauce circular metabólico que es parcialmente alimentado por los ciclos de los α -cetoácidos y que, a la inversa, contribuye a que circulen éstos*. Así, por una parte, el ciclo del ácido tricarboxílico en sí (dentro del que se producen y también afluyen desde fuera de él, el α -cetoglutárico y el oxalacético —esto es, los α -cetoácidos correspondientes a los dos α -aminoácidos dicarboxílicos, glutámico y aspártico—) podría considerarse como el ciclo de transformación por

* Obviamente el caudal metabólico restante que afluye al ciclo del ácido tricarboxílico consta de los metabolitos terminales de la demolición oxidativa de carbohidratos y de grasas. Por otra parte, el presunto ciclo de cada α -cetoácido estaría además alimentado por este metabolito, rendido por la transaminación entre α -aminoácidos y α -cetoácidos, mediada precisamente por el glutámico/ α -cetoglutárico y por el aspártico/oxalacético.

demolición exergónica del α -cetoglutárico en oxalacético y de la transformación, de efecto inverso, de la síntesis, con el concurso de acetilo, de oxalacético en α -cetoglutárico; y, por otra parte, el conjunto formado por este ciclo y por los de demolición y síntesis de cada uno de los dieciocho α -cetoácidos restantes parece constituir un extraordinario sistema de ciclos todos en permanente circulación acompañada, de los que resultan y en los que se consumen todos los componentes de todas las proteínas globulares (nos atrevemos a decir constituyentes del soma de todos los basibiones), proteínas con las que se integra el soma de todas las células.

Esta suerte de unidad metabólica funcional plantea algunos problemas nuevos, actuales. Así, Krebs señala la gran generalidad y antigüedad del ciclo:

«Aunque inicialmente fue propuesto para explicar los procesos oxidativos del tejido muscular, gradualmente se fue imponiendo que todos los tejidos animales que respiran, así como los microorganismos y los vegetales, emplean la misma ruta terminal de oxidación. El ciclo aporta aproximadamente los dos tercios del total de los procesos oxidativos en los organismos que queman carbohidratos, grasa y aminoácidos. La presencia de las mismas rutas metabólicas en todas las formas de vida indica que este mecanismo de liberación de energía surgió muy pronto en el curso de la evolución». (H. A. Krebs, *The citric acid cycl*, *Les Prix Nobel en 1953*, 1954).

Lo anterior es cierto, pero puede afirmarse con más generalidad que una gran parte del conjunto del metabolismo celular es común a todos los tipos de las células actuales, lo que, al parecer: *a*) remite el origen del conjunto principal del metabolismo celular a la evolución de una célula de la que provienen todas las células actuales que se han diferenciado posteriormente adaptándose a sus respectivos modos de vida mediante ajustes metabólicos secundarios de dicho conjunto metabólico básico, invariable; *b*) que en dicha célula primigenia, necesariamente heterótrofa, a lo largo de su evolución (esto es, desde la primera célula, hasta que se inició la diferenciación de los primeros prototipos de células actuales), como resultado principal del progreso de su acción y experiencia, hubo de irse estableciendo, paso a paso, ese gran núcleo central del metabolismo celular, cuya extraordinaria perdurabilidad indica que su función tiene que ser básica para toda forma de actividad celular posterior; *c*) que el gran dinamismo y el carácter unitario, que parecen propios del metabolismo celular en-

tendido como un conjunto de ciclos estrechamente interdependientes, plantea interpretar el metabolismo celular no sólo en términos del basibión que realiza cada paso metabólico, sino de la unidad celular misma, más en concreto, por el sentido del metabolismo para la acción y experiencia celular, que ha de guiar, realizándose, la actividad asociativa del conjunto coordinado de basibiones, conjunto que, claro es, hay que entender por su origen y mantenimiento en el marco de la unidad celular; *d*) de acuerdo con lo anterior, parece que, a lo largo de la evolución de la célula primigenia, cada sucesivo estado del metabolismo tenía que poseer para la correspondiente célula un sentido homólogo del que su metabolismo tiene para las células actuales como base de su actividad, sentido tan básico que lo ya conseguido era imprescindible para cada progreso metabólico, y éste fusionarse con el resto integrándose en la unidad funcional de la célula; dicho de otro modo, en la evolución de la célula primigenia, y, secundariamente, en las especializaciones metabólicas que diferenciaron los distintos tipos celulares derivados de ella, unas rutas metabólicas han tenido que preceder a otras de las que parecen condición *sine qua non*, y éstas haber surgido por ventajas selectivas potencialmente inteligibles y en virtud de un proceso histórico que, por una parte, debe estar mantenido estratificado en el metabolismo de las células actuales que, así, poseen en él una clave principal de toda la filogénesis celular, y que, por otra parte, no puede comprenderse —al modo científico, en términos del proceso de la realidad en torno— sino por el modo de haberse ido él produciendo, lo que, en definitiva, remite a inquirir la naturaleza y evolución de sus agentes, a saber, los basibiones que, en su propio beneficio, gobiernan las transformaciones moleculares, y la célula que gobierna, en el propio, la actividad de los basibiones.

III. DEL ENFOQUE QUÍMICO AL BIOLÓGICO DEL METABOLISMO CELULAR

Vemos pues, que los impresionantes resultados de la investigación bioquímica a lo largo del siglo XX han ido ofreciendo la descripción analítica, esto es, a nivel molecular: de los cambios químicos particulares que se producen intracelularmente (de cada una de las transformaciones metabólicas); del orden fijo

de encadenarse varios de estos pasos en las llamadas rutas metabólicas, y, en fin, de la coordinación general de las rutas, que va ofreciendo una visión panorámica —siempre a nivel molecular*—, cada vez mejor integrada, del metabolismo celular, tanto en lo que éste tiene de común para todas las células como en sus especializaciones diferenciales de los distintos tipos de células (parece que para lograr esta visión de conjunto ha resultado decisiva la coordinación de una ruta de síntesis y otra de demolición en cada ciclo y la coordinación general entre rutas y ciclos cuya iniciación va vinculada al nombre de Krebs).

Por lo demás, a la vista salta que cada uno de los tres grados de investigación biológica señalados se basa en conocimientos proporcionados por el grado de investigación inmediato anterior. La investigación de la actividad enzimática que conduce la transformación concreta de un metabolito en otro suele basarse en el conocimiento en términos químicos de esta transformación; el establecimiento de una ruta metabólica exige el conocimiento de los diversos pasos para ordenarlos convenientemente e inducir alguno que falte; en fin, el conocimiento de rutas fragmentarias es lo que permite ordenarlas en ciclos que, además, conecten —como el del ácido tricarbóxico— sectores diversos del metabolismo celular. Elevarse de modo consciente de un grado de investigación al siguiente ha supuesto para la bioquímica tres saltos cualitativos de su problemática, cada uno de los cuales podemos, como orientación, personificar, respectivamente, en Harden, que, hacia 1905, inicia la investigación enzimática intracelular en Neuberg, que piensa en las rutas metabólicas hacia 1920, y en Krebs, que intuye el concepto de ciclo metabólico en 1932 y que lo concibe como nexo entre sectores metabólicos en 1937.

* Como hemos visto en nuestra revisión histórica de la bioquímica, ésta, desde su iniciación en 1900, ha distinguido entre dos conjuntos interdependientes y que se han ido precisando cada uno en términos del otro: el de los metabolitos (a los que podrían sumarse los coenzimas y los grupos prostéticos de los enzimas) y el de los enzimas. Para nosotros, todos los hechos hablan ciertamente a favor de que las funciones enzimáticas son la manifestación de la acción y experiencia de las unidades de integración del primer nivel biológico, pero sigue dominando el prejuicio de que se trata no de unidades supramoleculares, sino de simples catalizadores químicos (de los que la bioquímica no se hace, ciertamente, cuestión ni del origen ni de la sorprendente especificidad de cada uno, ni, en fin, de cómo se produce el finísimo ajuste espaciotemporal entre todos).

Por otra parte, el ascenso a uno de estos grados de problemática bioquímica (por ejemplo, el de Krebs al de los ciclos) puede, como hemos visto, plantear, a la inversa, cuestiones inéditas concretas de un grado inferior de problemática. A mi modo de ver, una prueba de la capacidad creadora de Krebs fue saber orientarse sin datos suficientes de modo muy certero tanto en la configuración del ciclo del ácido tricarboxílico como en su significación metabólica general, salvando sin extraviarse lagunas que otros pudieron luego llenar a medida que lo fue permitiendo el avance del conocimiento bioquímico general, principalmente de coenzimas. Martius, en cambio, mostró mucha eficacia para desentrañar una ruta metabólica —las transformaciones de unos ácidos tricarboxílicos en otros—, en lo que el mismo Krebs no había tenido éxito; en cambio, estaba fuera de su horizonte conceptual el problema de situar su ruta (y, en general, las rutas) en el conjunto metabólico, lo que le impidió ver la significación general de lo que había descubierto. Krebs escribe:

«Retrospectivamente, uno puede muy bien preguntarse por qué Martius no llegó antes que yo al concepto del ciclo del ácido tricarboxílico. ¿Por qué no se le ocurrió que las reacciones que había descubierto y estudiado podían ser componentes del principal proceso productor de energía de la materia viva? Mi sospecha es que puede ser cuestión de visión científica o de actitud “filosófica”. Influida por su maestro, F. Arndt, Martius se consideraba a sí mismo entonces (así me lo dijo una vez) como un “químico orgánico teórico” interesado en mecanismos de reacción. La degradación oxidativa del cítrico era para él ante todo un problema químico y no biológico». (H. A. Krebs. *The history of the tricarboxylic acid. Perspective in Biology and Medicine*, número 14, otoño 1970, página 166).

Con el apoyo de esta cita de Krebs, podemos terminar preguntándonos cuál es el contenido real del cambio de la problemática bioquímica al pasar, en el estudio del metabolismo, del análisis de las transformaciones aisladas al de las rutas y al de los ciclos. Krebs apunta que, de Martius a él, se produce el cambio de una consideración de químico orgánico teórico a una consideración biológica. ¿Pero es realmente así?, o, en todo caso, ¿qué significa con ello?

En mi opinión, el gran resultado de la bioquímica ha sido develar las transformaciones de unas moléculas en otras que se producen en el interior de la cé-

lula, y su limitación, mantener su investigación al nivel descriptivo y no preguntarse qué distingue las transformaciones metabólicas de las restantes reacciones químicas ni cuál sea la causa de su característica peculiar, o mejor, ni cuál sea el agente que la determina y cómo el agente pueda irse comprendiendo por este efecto suyo. Me parece que este aspecto positivo (la gran conquista de conocimientos químicos de valor potencial inapreciable) y también la limitación se dan igualmente en cada uno de los tres órdenes de problemática bioquímica señalados, lo que explica que el desarrollo histórico de cada uno haya desembocado, más que en la comprensión en profundidad de los propios fenómenos (o, al menos, en la perplejidad ante el misterio que aún implican), en un panorama metabólico más amplio pero siempre investigado hasta ese mismo nivel descriptivo de lo que ven que sucede en el nivel molecular.

Así Martius, a mi modo de ver paradójicamente, se consideraba ser, según Krebs, un químico orgánico teórico cuando aplicó su talento a descubrir la ruta metabólica cítrico \rightarrow cis-acetónico \rightarrow isocítrico \rightarrow α -cetoglutárico (véase páginas 229 y siguientes) No lo entiendo así; no puedo dejar de pensar que un químico orgánico teórico de lo que había de ocuparse sería de estudiar las fuerzas intermoleculares e intramoleculares que hacen que, en unas condiciones ambientales dadas, una molécula orgánica se descomponga en otras determinadas o que cuando se encuentran fortuitamente dos moléculas de sendas especies químicas, abandonadas a sí mismas, den lugar a otra u otras determinadas, etc.; en mi opinión, Martius resolvió un problema muy distinto, genuinamente bioquímico, a saber, cómo el cítrico se transforma *in vivo* (bajo la actividad enzimática intracelular), como siempre, entre muchas posibilidades teóricas, en una muy determinada ruta metabólica (complicada aunque anodina energéticamente) que permite convertirlo precisamente en α -cetoglutárico, el cetoácido de un aminoácido, el glutámico; Martius logró con talento deslindar los pasos de una ruta metabólica pero contentándose con describir las transformaciones químicas de unos metabolitos en otros, sin preguntarse por qué se producen precisamente esas transformaciones; qué agentes lo logran y cómo, y qué ventajas puedan tener para ellos y para la célula. En resumen, Martius aborda con éxito un difícil problema bioquímico pero se contenta con resolverlo químicamente, como se lo imponía el hege-

mónico reduccionismo a lo molecular*, y además, sin preguntarse por la significación que lo descubierto pudiese tener —dentro de este nivel molecular— para otros campos del metabolismo celular.

Veamos, en fin, en qué se siente diferir Krebs de Martius que le hace pensar que él sí aborda un problema biológico. Parece tener razón en cuanto que (aunque sin reaccionar al reduccionismo a lo molecular) está comenzando a abordar el tercer orden de problemas metabólicos que, sin que precise por qué, le parece lleno de significado biológico. Krebs ya se proponía describir el conjunto de la demolición aerobia de los principios inmediatos desde sus sendas degradaciones oxidativas iniciales hasta la confluencia de todas en las cadenas respiratorias; ya hemos expuesto cómo Krebs, con lo que podíamos llamar un sobresaliente sentido de la composición, encontró en seguida la clave de ese gran proceso metabólico general en los tres pasos de degradación metabólica del cítrico descubierto por Martius, a los que, con su gran sentido de orientación, supo relacionar con otros fragmentos de rutas, conocidos y mal empalmados, logrando así un todo metabólico lleno de sentido a su nivel molecular. A esto, que él denomina resolver un puzzle metabólico, es a lo que considera Krebs su objetivo biológico; como los bioquímicos anteriores, procura componer rutas descubriendo los eslabones que falten, pero Krebs parece imprimir a esta tarea un objetivo de una ambición nueva, a saber, conseguir una imagen global del metabolismo celular al que considera como algo unitario, a lo que denomina actividad de la célula como un todo.

Si el soma celular, constituido por el conjunto de sus basibiones cooperantes, ha de considerarse como un todo que exige una unidad que lo gobierne, Krebs podía sentirse con visión de biólogo en cuanto que, aunque sólo de pasada e implícitamente, consideró a la célula como el agente del metabolismo celular.

Hemos visto cuántos descubrimientos bioquímicos y de cuán diversa índole (la naturaleza *sui generis* de las transformaciones metabólicas, la estructura supramolecular de las proteínas globulares con su actividad metabólica, etc.) parecen imponer la existencia de seres vivos de nivel directamente supramole-

* Me pregunto si fue precisamente el reduccionismo de lo observado al nivel molecular (en el fondo tan contrario a una rigurosa teoría química) lo que hacía que Martius se considerase como un químico orgánico teórico.

cular, los basibiones, cuya acción y experiencia es lo único que puede explicar toda transformación metabólica, a la vez que el metabolismo a nivel molecular es lo que puede dar una primera noción por su origen de los basibiones; pues bien, ese aspecto del todo coherente que desde Krebs, y en sentido creciente, se aprecia en el metabolismo celular hace pensar en la célula como ser vivo de segundo nivel, el de integración de la actividad asociativa de los basibiones de modo que consiga ese notable efecto concertado de la actividad metabólica de todos ellos: el metabolismo celular como el todo unitario entrevisto por Krebs (de hecho, el metabolismo celular desempeña la función de primordio de la acción celular, en el modelo de célula heterótrofa primigenia). Claro que plantearse el conocimiento de la célula como ser vivo de segundo nivel exige haberse formado antes una noción en lo posible clara de la naturaleza del ser vivo del nivel de integración directamente supramolecular de cuya evolución conjunta hubo de surgir la primera célula y que todas las células han de mantener como unidades cooperantes del nivel subyacentes como condición *sine qua non* de existencia. Excusado es decir que el campo principal de datos de que disponemos para ir comprendiendo el basibión son los del metabolismo celular proporcionados por la bioquímica, y que de añadidura y por doble motivo, ellos mismos son los que, sobre el basibión, pueden ayudar a entender la célula como unidad de integración (como agente, como ser vivo) de segundo nivel biológico.

Así, del mismo modo que, en la historia de la bioquímica, unos trabajos han servido de base a otros provocando, de tiempo en tiempo, cambios cualitativos en su orden de conceptos y problemas, parece que el extraordinario desarrollo durante el siglo XX de este cuerpo especializado de conocimientos lo ha llevado a un grado de madurez que exige la inflexión cualitativa que supone superar el reduccionismo a lo molecular que ha sido ciertamente el *leit motiv* principal de su desarrollo a nivel descriptivo, para, sobre el caudal de fenómenos químicos observados, comprender el origen, naturaleza y evolución de los agentes de primero y de segundo nivel biológico que los realizan, y, de este modo, concretando el propósito confuso de Krebs, elevarla a ciencia experimental y evolucionista conscientemente biológica.