

VIDA Y OBRA

Hans Krebs y el descubrimiento del ciclo que lleva su nombre



Mi historia

Comenzaré mi historia por el lugar que me vio nacer, he viajado a lo largo de mi vida y nunca he visto un lugar con tanto encanto como Hildesheim, es el resultado del amor por la belleza, y un civismo del que todos sus habitantes están orgullosos. Es una pena, pero fue destruido pocos días antes de que acabara la guerra, "Si la guerra está perdida, la nación tendrá que perecer" Fue la reflexión del Führer. Nací en este pueblecito el 25 de Agosto de 1900, mi padre, George Krebs, era otorrinolaringólogo, no completó sus estudios en la universidad pero publicaba sus experiencias clínicas, le gustaba escribir poesía, y se interesaba por la política. En casa había una atmósfera intelectual que impregnó a los tres retoños de la casa, mi padre estaba suscrito al círculo de lectores, y leía todo lo que llegaba a mis manos, incluidos los cómics.

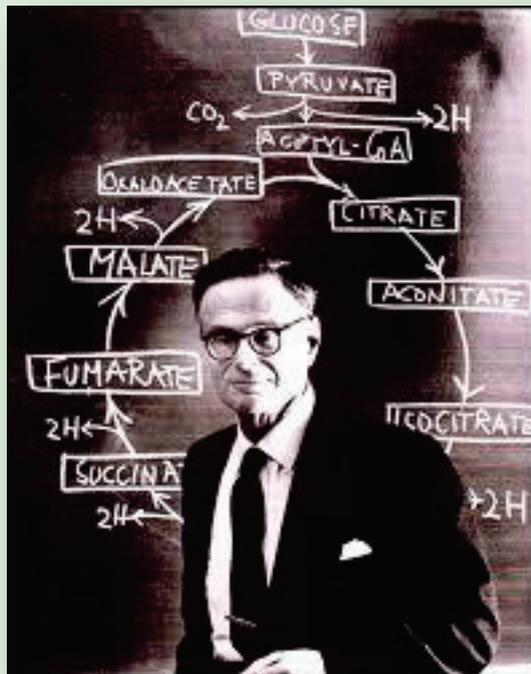
En la primera década del siglo, el sentimiento antisemita iba *in crescendo*, mi padre llegó a creer que la única manera de refugiarnos de él era eliminar cualquier vestigio de nuestras raíces judías, incluso abandonar su fe y mimetizarnos, diluyéndonos en el todo. Cuando el antisemitismo empezó a expandirse hubo tres tendencias

dentro de la comunidad judía: un primer grupo decidió volver a la "Tierra Prometida", un segundo grupo permaneció en su lugar de origen y mostraba su cultura abiertamente, enorgullecándose de ella, y un tercer grupo, al que perteneció mi familia, fue el que eliminó cualquier símbolo o tradición, y negó la enseñanza religiosa judía. Comenzamos a recibir

ternos acabaron pereciendo en campos de concentración. Fue durante los años veinte cuando se popularizaron lecturas de corte fascista, de autores como Adolf Stoecker, o Hauston Stewart Chamberlain. A lo largo de los primeros años de mi vida pude observar cómo todas estas tensiones, además de la Primera Guerra Mundial (1914-1918), afectaron a la vida cotidiana, todo se volvió

más austero, cada vez había menos juguetes y menos alimentos. Mis padres comenzaron a tener una conducta más severa, y la espontaneidad desapareció de nuestras vidas, al igual que los besos de buenas noches. Este fue el caldo de cultivo de lo que ocurriría posteriormente.

Fue mi padre el que despertó mi amor por la naturaleza. Dábamos largos paseos por las colinas que rodeaban Hildesheim, recuerdo una alfombra de flores blancas y moradas (*Corydalis cava*). También me gustaba ir en bici, pero durante el asedio (1916-1917) dejó de haber cámaras, y neumáticos, y como he comentado anteriormente era un fascinado lector. El recuerdo que tengo de mí es ser un niño consciente de sí mismo, tímido y solitario, no agresivo, ni revolucionario y tengo la impresión de haber sido poco popular. De 1910 a



Hans Krebs con "su" ciclo escrito detrás en la pizarra

clases de religión protestante en la iglesia, e incluso nos cambió el nombre a los tres para que fuésemos realmente alemanes, la eliminación de cualquier señal que nos pudiera relacionar con lo Judío. Aunque fue una decisión previsoras e inteligente, no pudimos escapar de nuestras raíces. Muchos de mis tíos y primos ma-



1918 estudié en la *Andreanum Local Grammar School*. Mi aprendizaje se centró en el estudio de Latín, Griego, Historia, Alemán y Matemáticas, pero no en las demás ciencias. Cuando entré en la universidad mi educación en estas materias era incompleta. En mi época de escuela todas las asignaturas me gustaban, pero no era sobresaliente en ninguna. Mi preferida era historia. En esta época recibí clases de piano, pero la música no era mi fuerte. Ni a mí, ni a nadie se le hubiera ocurrido que tenía un potencial especial.

Cuando tenía 14 años estalló la guerra, nadie de mi alrededor intuyó las nefastas consecuencias que ésta tendría. Empezó a haber cartillas de racionamiento y decidí plantar un huerto para poder tener ciertas verduras que de otro modo hubiera sido imposible conseguir. Muchísimos jóvenes de 17 y 18 años hicieron el servicio militar obligatorio y acabaron en la guerra, conocí a mucha gente que murió pero, por suerte, cuando me tocó hacerlo a mí, Alemania estaba perdiendo la guerra, y llegó al colapso antes de que yo pudiera incorporarme a "filas".

Empecé la universidad un poco tarde, ya que estaba de servicio militar, escogí la carrera de Medicina, mi padre me dijo una tarde antes de partir a la Universidad de Göttingen que no olvidara nunca la modestia y que recordara siempre que "*un doctor no es una vida, son muchas*". Creo que estaba orgulloso de mí.

La época de la postguerra fue dura, cartillas de racionamiento, falta de gasolina, cortes de luz a partir de las 9 de la noche, y la universidad era dura, no había tiempo de trabajar. Al año siguiente me fui a

Freiburg, otra universidad con muy buena reputación cerca de la Selva Negra. Por este tiempo murió mi querida madre de forma repentina, fue una pena no poder despedirme de ella. En 1920 conseguí participar en un trabajo en la universidad haciendo tinciones histológicas. Con estos estudios fue cuando realicé mi primera publicación. Gracias a estas prácticas fui consciente de lo importante que eran la Física y la Química en la Biología, quizás fue este el germen de mis estudios bioquímicos posteriores. En esta época recibí clases de Franz Knoop, profesor de fisiología; en sus clases tuve mi primer contacto con los intermediarios metabólicos. Cuando fui alumno suyo, él no había alcanzado la fama, era joven, pero fue el descubridor de la beta-oxidación de los ácidos grasos, llegando a descubrir esta ruta alimentando a un perro con ácidos grasos con carbono marcado.

Me mudé a Munich para terminar mis estudios clínicos en *Munich Clinical School*. Justo en esta época se llegó al pico más alto de Inflación, en mi familia había problemas de dinero, mi padre viendo cerca el fin de mis estudios esperaba que me incorporara rápido al mundo laboral, siguiendo sus pasos, quería que fuera "otorrino". Hice mi último examen en Diciembre de 1923, con muy buena nota, requisito imprescindible para encontrar trabajo en un buen hospital. Quería entrar en un hospital de Berlín, que estaba conectado con la Universidad para poder realizar algunas investigaciones, pero no fue posible. Mis primeras investigaciones, no pagadas, fueron del Sistema Nervioso, y drogas antisifílis. Estuve en tres clínicas, donde me convencí de la importancia de la Química en la investigación, y fui consciente de mi conocimiento insuficiente

en esta materia como para realizar el proyecto que tenía en mente. Decidí cambiar el trabajo clínico por el investigador. La Bioquímica estaba ganado terreno y entré en el departamento de Bioquímica del hospital en el que trabajaba. Mi padre siguió financiando, de mala gana, mi vida, hasta que poco tiempo después, surgió mi primer trabajo remunerado en el laboratorio de Otto Warburg, como asistente de laboratorio.

El trabajo en el laboratorio fue gracias a un buen amigo, Bruno Mendel, que confiaba mucho en mi potencial científico y me recomendó en una conversación con Otto Warburg, cuando éste dijo que eran pocos en el laboratorio y necesitaban colaboradores. Empecé con un sueldo realmente bajo, pero este fue, sin duda, el cambio que produjo el avance más grande de mi carrera. Es importante ser trabajador y tener contactos. Warburg era un hombre extravagante, sin miedo, un científico con una mente prodigiosa, extremadamente independiente; de todos los profesores fue el que más fuertemente me influyó y tengo el deber de estarle inmensamente agradecido. En el laboratorio de Warburg, de 1919 a 1970, hubo tres líneas de investigación principales: Fotosíntesis, cáncer, y estudios de enzimas responsables de la transformación de la energía biológica (REDOX). Warburg fue un científico pionero en el desarrollo de instrumentos para la investigación: desarrollo manómetros, nuevos métodos de cristalización y purificación de enzimas, inventó una nueva técnica de corte de tejido que permitía muchos estudios metabólicos en tejido intacto. Fue premio Nobel por el descubrimiento del poder catalítico del hierro porfirínico en las oxidaciones biológicas. No se puede

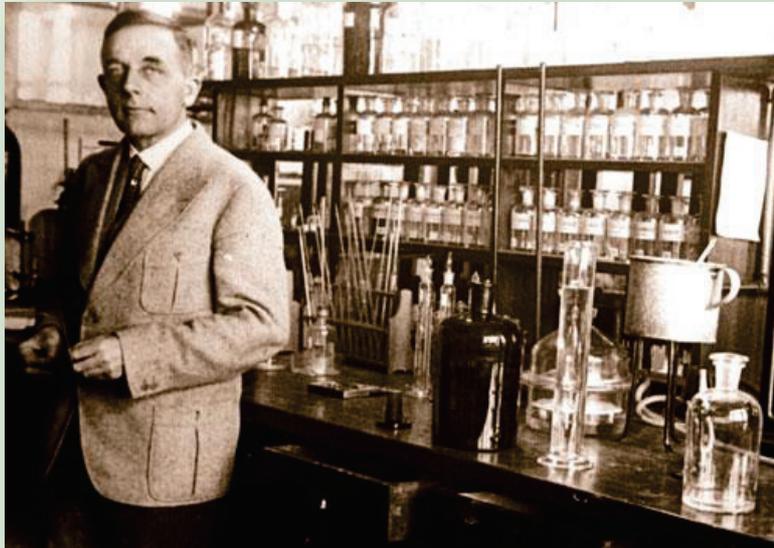
negar que fue un hombre realmente implicado con su labor. Trabajó en su laboratorio hasta 8 días antes de morir.

en el laboratorio publiqué 16 "papers".

Durante mis vacaciones estudiaba idiomas inglés y fran-

describía como su mejor pupilo, pero creo que esta opinión se vio muy influenciada por mi trayectoria investigadora. Durante mis últimos meses en el laboratorio me dijo que ser bioquímico no era una profesión, pero ser médico sí que lo era, y que si quería casarme y comprar una casita para mi futura familia tendría que pedir un préstamo, y que si quería convencer al banquero de que me prestara dinero lo más conveniente es que fuera médico. No me animó en ningún momento para que continuara mi carrera como bioquímico; aunque en su defensa tendré que decir que en aquella época habría tan solo una docena de bioquímicos en Alemania, y la opinión generalizada era ésta. Cada vez era más difícil encontrar un puesto en la universidad, se estaba expandiendo demasiado el movimiento antisemita. Era difícil en mi situación demostrar mi habilidad. Cuando Warburg me echó y nadie me ofreció trabajo me sentí más bien mediocre. Puse toda mi esperanza en el Congreso Internacional de Medicina, donde algunos científicos buscaban jóvenes colaboradores, y fue allí donde surgió la oportunidad.

Durante 6 meses estuve trabajando en el Hospital de Altona, realizando un excelente entrenamiento en medicina clínica. Hice buenos amigos, pero Altona estaba fuera de la corriente académica. En el poco tiempo que tenía, seguí investigando, pero sin mucha libertad, demasiado influido por Warburg, que me había proporcionado el equipo a cambio de resolver un problema, poco atractivo, que me había planteado, sobre las diferencias metabólicas entre células tumorales y células sanas en la degradación de proteínas.



Otto Warburg en su laboratorio

Quando llegué al laboratorio no lo conocía, estaba realmente nervioso. Aunque trabajaba 10 horas al día 6 días a la semana el ambiente era relajado, Warburg era un benévolo dictador, y aunque a veces era feroz, no explotaba a los becarios. En el laboratorio no se hablaba de derechos laborales ni de salario, ganábamos poco y trabajábamos mucho, pero estábamos contentos porque aprendíamos y contribuíamos a la sociedad. En el laboratorio había instrumentos privilegiados y los grupos de trabajo eran pequeños. Durante mi estancia en el laboratorio estudié el espectro de absorción de las "enzimas respiratorias" (citocromos), la inhibición de la respiración celular por CO (monóxido de carbono), y demostré que hay trazas de cobre en el suero sanguíneo, y que las concentraciones del mismo variaban con algunas patologías. Durante los 4 años que estuve

cés, y viajé a Inglaterra, Bélgica y París en modestos viajes para practicarlos. También fui a USA al 30º Congreso de Fisiología de Boston, gracias a que la Sociedad Científica Alemana sufragaba los gastos. Allí conocí a fisiólogos y bioquímicos tan famosos como el matrimonio Cori o Leonor Michaelis.

Durante 1929 Warburg me recordaba muy a menudo que no podía estar en el laboratorio trabajando indefinidamente, no quería "seniors" en su laboratorio, y cuando volví de USA me dijo que tenía que abandonarlo. No me ofreció ayuda, aunque sí me dio recomendaciones. Creo que esta actitud se debió a que no creía que fuera lo suficientemente hábil para una exitosa carrera. Más tarde, cuando se evidenció mi capacidad para proyectos independientes, se mostró más amigable y colaborador. Durante sus 10 últimos años de vida se mostró tremendamente cálido conmigo, me dijeron que me



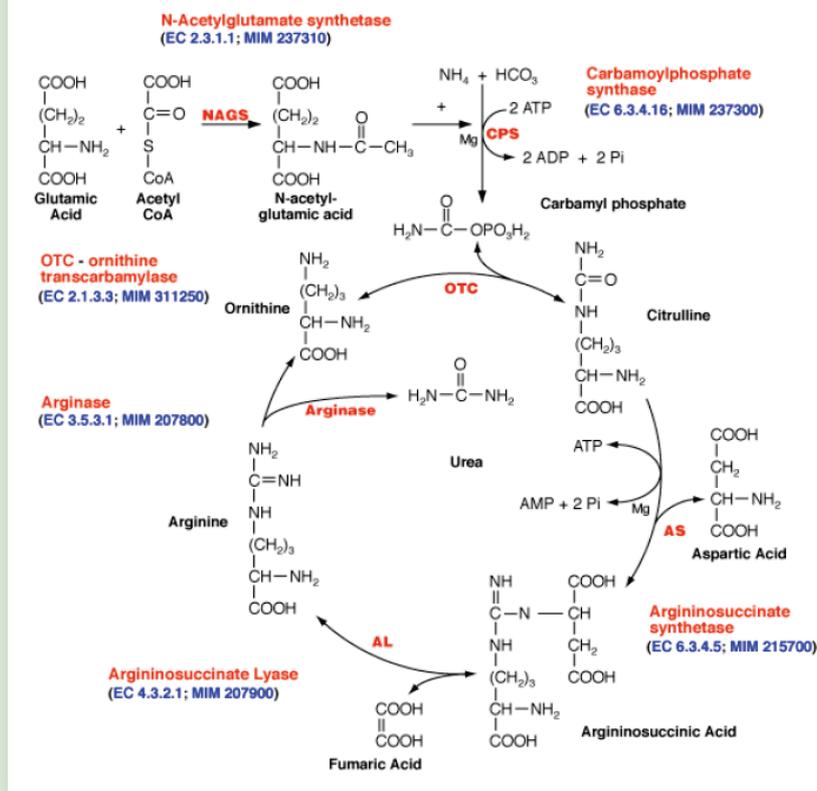
No era inspirador, la respuesta era predecible, y el método de enfoque muy limitado.

Transcurridos estos 6 meses surgió la oportunidad de volver a Freiburg, a un nuevo hospital universitario, donde había muchos investigadores distinguidos, entre ellos 3 futuros *nóbeles*. En Freiburg por primera vez fui libre, podía llevar a cabo mis propias ideas, mi propia línea de investigación, y me permitieron tener mi equipo entre Altona y Freiburg. Me aumentaron la concesión de dinero de la *Sachs Platz Foundation of Boston*, que era la que me subvencionaba. Esto me permitió nombrar a un técnico joven, que me fue de mucha ayuda; también había trabajado conmigo jóvenes estudiantes y recién graduados. La expansión de mi laboratorio me proporcionó una ayuda de la Fundación Rockefeller. Fue mi primer contacto con la fundación que colaboró en mis investigaciones durante 3 décadas. Por estas fechas el hospital se animó a incluir en sus investigaciones estudios fundamentales, ya que podían llegar a ser relevantes en la medicina clínica, y en este contexto decidí estudiar la formación de urea en el hígado. Fui realmente afortunado con esta elección porque me llevó 20 meses más tarde al descubrimiento del ciclo de la urea, el primer ciclo metabólico descubierto.

En este proyecto colaboró conmigo un estudiante de tesis, Kurt Henseleil, que aprendió rápido a manejarse en el laboratorio, y trabajó muy duro, aunque no pudo desarrollar su carrera científica porque, como muchos otros, fue considerado *persona non grata* por el *III Reich*. Yo esperaba que esta

reputación de investigador original, hecho crucial para continuar mi carrera investigadora fuera de Alemania. Por estas fechas en mi país había una profunda crisis, con una tasa de paro altísima, que aprovecharon los radicales. El 30 de Enero de 1933, Hitler subió al poder.

CICLO DE LA UREA (1932)

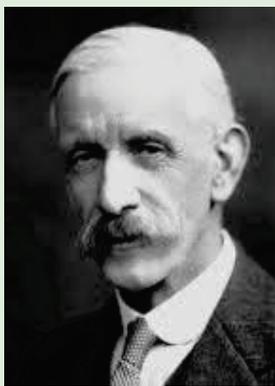


investigación fuera útil para la medicina en el futuro, y así fue. Hoy día conocemos 5 enfermedades causadas por fallo en los enzimas del ciclo. Este descubrimiento fue inmediatamente reconocido por la comunidad científica, mucha gente me ofreció colaboraciones. También fue muy relevante la fecha del descubrimiento, 1932, un año antes de que Hitler subiera al poder. Gracias al descubrimiento conseguí

El ciclo de la urea supuso un acercamiento entre la Biología y sus ciclos (menstrual, circadiano, ciclo del carbono, ciclo celular) y la Química y sus reacciones. Este descubrimiento marcó el camino. Aunque la mayor parte de la comunidad científica lo aceptó favorablemente, también sufrí críticas desde Leningrado y Cambridge, pero ninguna de ellas pasó el test del tiempo. Como conclusión me queda que la suerte

es una realidad, pero que el gran número de experimentos llevados a cabo, aumenta la probabilidad de ser afortunado.

Cuando Hitler subió al poder, sus simpatizantes en pocos días comenzaron a llevar los uniformes nazis y el 1 de Abril comenzó el boicot a los comercios judíos. El 12 de Abril recibí una carta del decano de la universidad diciendo que había recibido instrucciones del Ministerio de Educación que decía que tenía que abandonar mi puesto de trabajo. Nadie de la etnia judía, independientemente de su religión, podía a partir de ese momento trabajar para el estado. El 18 de Abril recibí la confirmación del despido, llegó del administrador del hospital, con quien tenía un buen trato. Se sustituyeron gran cantidad de cargos públicos, entrando en la administración gente bastante mediocre, pero afines al movimiento. Se sustituyó a todo aquel que tenía ideología antinazi. La noticia de mi despido se extendió por la universidad, y un joven doctor alemán, Walter Herkel, me escribió diciendo que había hablado con Sir F.G. Hopkins, presidente de la *Royal Society*, anunciándome que estarían interesados en que trabajara con ellos. Decía que no esperaba demasiado, pero que había posibilidades de financiación



F.G. Hopkins

para mi propia investigación. Escribí a Hopkins explicando la situación en Alemania y pidiéndole un pequeño sueldo para poder continuar mi investigación. Hopkins contestó que admiraba mucho mi trabajo y que estaba ansioso por ayudarme; si recibía financiación estaría encantado de buscar un lugar para mí en el laboratorio. Recibí otra oferta de trabajo de Zurich, pero decidí rechazarla. La fundación Rockefeller me ofreció soporte para trabajar un año en Cambridge, Hopkins me ofreció otra oferta en Oxford. Mientras tanto la atmósfera política se iba deteriorando: exaltación nacional, sentimiento antisemita creciente (incluso llegó a haber un manifiesto pegado por toda la universidad, escrito por estudiantes con declaraciones muy crudas, en esta línea). El 15 de Julio, el mismísimo Heidegger puso su firma en el documento que acababa con mi nombramiento como profesor de la universidad, era imposible seguir trabajando en Alemania. La mayoría, incluidos intelectuales y personal de la universidad, aceptó la política nazi como si no pudiera hacer nada, mucha gente intentaba justificar su comportamiento poniendo el énfasis en las presuntas buenas características del cambio, excesivas, pero temporales. *"Estamos en una situación excepcional"* decían. Como ya he dicho, hubo pocos opositores. Uno de ellos, fue Ludwig Aschoff (Universidad de Freiburg), que hizo una demostración de gran valor. La mayoría de la comunidad universitaria se sentía intimidada. Einstein, que por aquel entonces era el científico alemán más famoso, fue totalmente rechazado por su posicionamiento en el conflicto, y fue expulsado de la Academia Científica de Prusia. No fui el único científico que intentó escapar. Afortunadamente los nazis todavía no

habían penetrado aun en toda la administración, y conseguí el permiso para ir a Cambridge. No tuve tiempo de ir a Hildesheim a despedirme de mi familia, recibí una carta muy sentimental y especialmente solemne de mi padre unos días antes de mi partida.

Llegué a Reino Unido con parte de mi equipo, que sabía que sería de gran utilidad. Cuando pisé territorio británico estaba realmente optimista, muy animado por la carta de Hopkins y las promesas de la fundación Rockefeller. Primero viajé a Oxford, pero allí no podían ofrecerme financiación, con lo cual quedó descartado. Unos días más tarde quedé con Hopkins, me dijo que el sueldo que me ofrecía la fundación Rockefeller era bastante menor que el de Freiburg. No me pareció un problema, recogí mi equipaje y partí a Cambridge. Me amoldé muy bien y muy rápido, el laboratorio era un hervidero de actividad, era uno de los más modernos centros de Bioquímica del mundo, trabajaban allí distinguidos y entusiastas científicos como Dorothy Needham, Eric y Barbara Holmes, Malcolm Dixon, Rob Hill o Bill Prie. Yo continué con mi trabajo sobre el metabolismo de los aminoácidos que había empezado en Freiburg. La reacción catalizada por 2 glutaminasas distintas dependiendo del tejido (riñón, cerebro, retina, hígado), fue mi punto de partida. Necesitaba tiempo para estudiar el destino de los ácidos dicarboxílicos en el riñón. Este fue el principio de un trabajo que me llevó finalmente al descubrimiento del ciclo de los ácidos tricarboxílicos. Estudié con Norman Edson la formación de cetonas en el hígado y continué el trabajo sobre la síntesis de ácido úrico.





Sheffield, un colaborador alemán, descubrió un precursor del ácido úrico, la hipoxantina.

En Inglaterra me sentía completamente en casa. En Alemania antes de mi partida la situación era realmente tensa: cargas policiales, enfrentamiento religioso, antisemitismo. Sin embargo mi día a día en Cambridge era generoso y cálido, había un interés en las líneas investigadoras de los compañeros de otros grupos, se discutían libremente ideas, dificultades y resultados. Con ayuda de los alumnos de literatura alemana puse mi inglés a punto, y comencé a leer a Lewis Carroll, Bacon, Addison y Wilde. Estoy convencido que el dominio de un idioma incluye el de su patrimonio literario.

Comencé a percibir que en el clima intelectual empezaba a crecer la idea de la responsabilidad social, había en el ambiente una preocupación general por los refugiados alemanes.

Durante mi estancia en Cambridge, Weizman, un compañero, discutió conmigo la posibilidad de ir a Palestina a un proyecto con un grupo de refugiados aunque la idea finalmente no llegó a materializarse, la calidez de Cambridge me atrapaba. Un refugiado escribió una vez que *"El hogar no es donde un hombre nace, sino donde quiere morir, un lugar donde pueda llevar una vida ordenada y tranquila"*. Entre 1933 y 1935 en el laboratorio estuvimos trabajando 6 refugiados. Cambridge y Hopkins fueron toda una revolución personal para mí, donde experimenté de manera más intensa la fraternidad. Fueron todo un ejemplo de equipo científico.

En 1935 la *British Pharmacological Society* me ofreció un trabajo en la universidad de Sheffield, cobrando más del

doble, y me pareció una oportunidad, así que decidí volver a migrar, una vez más, y me marche a Sheffield. Me mudé en Octubre de 1935, y pasé en esta pequeña ciudad 19 felices años de mi vida, aunque la política y la Segunda Guerra Mundial dejaron oscuras sombras. Trabajé en el laboratorio del profesor Wayman, quien me ayudó y asesoró en innumerables ocasiones y me introdujo en importantes aspectos de la vida académica inglesa. El Profesor Wayman estudió medicina y realizó un postdoctoral en química, por lo que sus críticas y consejos fueron realmente útiles en mi campo. Me ayudó con los *"papers"*, me dio mucha libertad y me introdujo en las lecturas bioquímicas. A las pocas semanas Hopkins me escribió para ofrecerme un puesto en Cambridge, muy a mi pesar decidí quedarme en Sheffield, tenía todo el equipo y espacio necesario. Aunque Cambridge ofrecía más entusiasmo y estimulación, las líneas de investigación eran sencillas. En Sheffield se iba a establecer un departamento de Bioquímica, y al ser una universidad mucho más pequeña era más fácil establecer contactos con otras facultades y departamentos, así que decidí quedarme por las oportunidades en la investigación. Nunca me arrepentí de esta decisión, porque los 18 meses que siguieron fueron excepcionalmente fructíferos, pues concluyeron con la publicación del ciclo del ácido cítrico. Mis más cercanos colaboradores fueron Leonard Eggleston, que se incorporó a mi laboratorio con solo 17 años, y se mantuvo a mi lado durante un largo periodo, trasladándose conmigo a Oxford, donde murió joven. El otro fue William Arthur Johnson, este muchacho fue el primero de su promoción, estudiante de química. El trabajo del ciclo del ácido

cítrico fue parte de su tesis, era excelente en el laboratorio. Sirvió en las fuerzas aéreas durante la Segunda Guerra Mundial; tan pronto como terminó la guerra perdí el contacto con él, hice innumerable esfuerzos para encontrarlo, hasta 1978, cuando lo localicé en las Islas Caimán, donde trabajaba como *manager* de una granja de tortugas.

Cuando tuve evidencias sustanciales de que el ciclo parecía ser un hecho, envié una carta a *Nature*, en 1937, El manuscrito fue devuelto 5 días más tarde: había sido rechazado. Fue el primero que me rechazaban después de haber publicado más de 50 *"papers"*. Dos semanas más tarde envié el *"paper"* completo a *Enzymologia*, donde fue publicado. Cuando 16 años más tarde recibí el premio Nobel el editor de *Nature* me escribió una carta felicitándome por el premio y pidiéndome revisar el *"paper"* para publicarlo en la columna correspondiente.

Durante mediados de los años treinta el poder de Hitler aumentó, al igual que sus monstruosidades, yo era optimista y pensaba que aquel régimen caería en pocos años. En Reino Unido, Churchill alarmaba de la situación (antes de ser jefe del gobierno) mientras Hitler comenzaba a tener admiradores en tierras inglesas, con Oswald Mosley a la cabeza, fundador de la Unión Británica Fascista. En 1938 encontré en la ventana de mi laboratorio cientos de panfletos antirefugiados: *"Encontradle casa a los refugiados en otra parte"*. Esta fue mi única experiencia de este tipo en Inglaterra. Este mismo año fue el 30º Congreso Internacional de Fisiología en Zurich. Aprovechando mi intervención en el mismo, esta fue la primera vez que volvía a Alemania después



de mi partida 5 años atrás. Hablé con muchos científicos que se habían quedado y la atmósfera opresora no había parado de crecer. Muchos participantes se sentían incómodos con los refugiados, otros hacían como si nada pasara y a un pequeño grupo les agradaba nuestra compañía. Quería renovar mi pasaporte después de 5 años fuera, el Cónsul me dijo que podía renovarlo pero que de acuerdo con el comunicado de las autoridades alemanas mi entrada en el país, incluso una temporada, era considerada indeseable. Cuando fui a recogerlo una semana más tarde me lo recordó, y añadió que no debía volver a Alemania si no era con permiso o debería contar con las medidas previstas para emigrantes.

En la primavera de 1938 me casé con Margaret Fieldhouse, profesora de ciencias domésticas en Sheffield, un año después nació mi hijo Paul, unos años más tarde nacieron Helen y John. Además de trabajar duro en aspectos del ciclo del ácido cítrico, el laboratorio estaba preocupado por la síntesis de purinas y ácido úrico, la síntesis de glutamina y oxalacetato en el hígado de paloma y en el estudio de las transaminasas.

En Agosto de 1939 el "paper" estaba aceptado, se publicaría el 6 de Septiembre. El 3 de este mismo mes estalló la guerra. Estaba ansioso por prestar mis servicios, pero no me aceptaron, no había hecho el servicio adecuado. Durante esta década mi hermana y su marido migraron a Israel y mi hermano a Inglaterra. Mi padre murió pocos días antes de que comenzara la guerra, al menos no acabo en un campo de concentración, pero la persecución Nazi hizo sus últimos años muy tristes, perdió su trabajo y tuvo que subsistir dándole clases a un niño, gracias a que su madre

le permitió ejercer esta tarea. Después de la invasión de Europa Occidental fue imposible cualquier comunicación con nadie en Alemania.

La historia del descubrimiento del Ciclo del Ácido Cítrico (1936-1937)

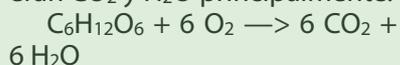
Mucha gente que ha leído en libros de texto sobre el ciclo me dice que no se puede imaginar cómo se llega a secuencia completa, yo siempre digo que no fue una inspiración repentina, fue la lenta evolución de una idea que desde 1932 fue madurando hasta llegar al descubrimiento del ciclo, un proceso que se extendió 5 años.

El ciclo podría definirse como la serie de cambios químicos de los productos alimentarios (azúcares, lípidos y proteínas) una vez consumidos. Esta combustión (o degradación) es una de las reacciones químicas fundamentales en la vida de los organismos que la realizan, porque es la que proporciona la energía necesaria para la construcción y el mantenimiento de la vida (movimiento, crecimiento, síntesis...). Esta fue la idea original, aunque hoy día se considere una ruta anfóbica.

TRABAJOS PREVIOS

Contribución de Lavoisier (1789)

Dijo que los cambios a los que se veían sometidos los alimentos era una combustión, y que los productos finales de esta combustión eran CO₂ y H₂O principalmente.



Los principios de la Química nos dicen que las 6 moléculas de O₂ no pueden reaccionar todas a la vez, porque, por re-

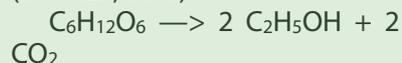
gla general, los procesos químicos en un individuo acontecen entre 2 compuestos.

Esto implicaría que la combustión de la glucosa es un proceso que se da en pasos separados que requieren una identificación.

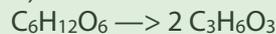
Conocimiento previo de las fermentaciones

En 1932 se conocía la fermentación:

a) Fermentación alcohólica (cerveza, vino):



b) Fermentación láctica



En la fermentación no hay una oxidación completa de la glucosa. Precursor inmediato del ácido láctico es el ácido pirúvico.

Este fue el momento de lanzar un par de preguntas:

1. ¿Lo que se "quema" a continuación, es el producto de la fermentación?

2. ¿La combustión completa tiene etapas, como la fermentación?

Tanto la producción de ácido láctico como la de alcohol son el resultado de 12 pasos.

Los pasos de la combustión completa de la glucosa eran DESCONOCIDOS, como hemos comentado anteriormente, y en este momento era muy difícil su estudio. Las técnicas existentes (métodos químicos estándar) permitían el estudio de la reacción sólo cuando podía ocurrir en una solución, y hasta que "la Bioquímica" no consiguió trasladar las reacciones a una solución, no fue posible el estudio de los pasos concretos. Menciono esto para hacer notar la importancia del desarrollo de las técnicas para seguir avanzando. Después de muchos intentos de conseguir un extracto en el que se diera este proceso oxidativo, se encontró uno.



Contribuciones de Albert Szent-Györgyi (Americano de origen húngaro)

Desarrolló una preparación de tejido en la que la estructura clave de la oxidación, la mitocondria permanecía intacta. Para ello usó el músculo del vuelo de la paloma, un material excepcionalmente activo que "degradaba alimentos" a una gran velocidad. Para la preparación del extracto picaba el músculo fresco de la paloma, y suspendía el triturado en una solución salina.

Szent-Györgyi se hizo la siguiente pregunta: *¿Qué sustancia se degrada más fácilmente?* Él consideraba que los azúcares y las grasas se degradaban y estaba buscando los intermediarios de la degradación.



A. Szent-Györgyi

Lo lógico es pensar que si una sustancia es un intermediario se degradará más fácilmente.

Szent-Györgyi, y otros antes usando métodos similares, observaron que de innumerables sustancias probadas solo unas pocas eran realmente oxidadas en la suspensión de músculo. Las sustancias eran los ácidos dicarboxílicos succínico, fumárico, mágico y oxalacético. Sin embargo, el conocimiento de que estos compuestos eran fácilmente oxidables no fue

relacionado con la oxidación de los alimentos (glucosa, por ejemplo).

Yo tampoco sabía claramente que sustancias podría haber entre el oxalacético y los productos finales, CO_2 y H_2O .

De cualquier modo, Szent-Györgyi hizo el descubrimiento más importante: *La velocidad de oxidación en las sustancias del músculo podía ser incrementada añadiendo pequeñas cantidades de cualquiera de estos ácidos dicarboxílicos.* Cuando medía las cantidades de oxígeno recogidas después de la adición de estas sustancias, encontró que el consumo del mismo no podía explicarse meramente como oxígenos producido por estas reacciones. Finalmente concluyó que estas sustancias podían acelerar "catalíticamente" la degradación de sustancias contenidas en la suspensión del músculo. Aunque la "catálisis" no le pareció una conclusión satisfactoria.

Las contribuciones de Knoop y Martius (Alemanes)

Ellos no estudiaban la degradación de alimentos. Su objetivo era establecer las etapas (los intermediarios) de la oxidación del ácido cítrico. Pequeñas cantidades de ácido cítrico están presentes en muchos alimentos. Estos intermediarios podían servir como fuente de energía cuando se degradaban. Pero estamos en el mismo punto que con el resto de alimentos: los pasos químicos que convertían al citrato en CO_2 y H_2O eran desconocidos.

Knoop y Martius aclararon las etapas iniciales de la degradación, descubriendo la secuencia de reacciones que se da en el tejido hepático, para producir ácido alfa-oxoglutarico a partir de ácido cítrico, a través de los intermediarios ácido *cis*-acónico y ácido isocítrico. El que en ese momento

se consideraba producto final, ácido alfa-oxoglutarico, hoy día se sabe que es un intermediario que se puede formar a partir de glutamato y además puede ser oxidado a ácido succínico.

Experimentos Cruciales (Krebs)

Este es el momento en que llega mi propia contribución. En 1932 estuve probando la "oxidabilidad" de varios tejidos, me centré en hígado, músculo y riñón. Usé sustancias, que con mis conocimientos de básicos de Química, podrían ser intermediarios en la degradación de azúcares, grasas y proteínas. Había visto la secuencia de oxidación del citrato y también intenté dilucidar las reacciones químicas del ácido cítrico sin éxito.

Mi interés en los ácidos dicarboxílicos y tricarboxílicos mencionados anteriormente surgió del convencimiento de que con mucha probabilidad estaban relacionados con la degradación de alimentos. Tenía 3 razones para pensar esto:

1. Eran las únicas sustancias entre docenas examinadas que se degradaban aproximadamente a la misma velocidad que la comida.

2. Casi todas las propiedades de la vida tienen una función: si una sustancia o un proceso ocurre, es probable que tenga un papel en el juego de la vida de la célula.

3. Sabía de unos trabajos de Thunberg (1910) y Quastel (1928) sobre el ácido málico. Una sustancia con una estructura parecida al succinato, que específicamente inhibe la oxidación de succinato a fumarato, y todos los procesos de combustión de la célula. Esto indicaba que el paso de succinato a fumarato es un componente de la reacción biológica de degradación. Esta consideración establecía un estrecho vínculo entre la oxidación de



los alimentos y la secuencia de reacción que conducía de ácido cítrico a oxalacetato.

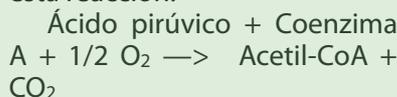
Así que me dije a mí mismo si no sería posible que el ácido oxálico se combinara con una sustancia derivada de los alimentos, para formar citrato: ¡Un Ciclo! El candidato más probable para reaccionar con el oxalacetato era el piruvato, que había mencionado anteriormente como un intermediario en la degradación anaerobia de glucosa. Así que usé suspensiones de picadillo de músculo del vuelo de paloma (como antes hizo Szent-Györgyi) para poder probar si el piruvato y el oxalacetato juntos formaban citrato, y observé que -en efecto- lo hacían. El conjunto de reacciones que conducen de oxalacetato y piruvato a malato no se conoció con detalle hasta 1951. La información que yo había obtenido eran sólo cualitativa. Lo que quedaba por demostrar era que la velocidad de la reacción clave, la síntesis/degradación del ácido cítrico era lo suficientemente alta como para que la totalidad de la combustión del tejido "pasara" por esta etapa. Si se sabía la velocidad del proceso de combustión, se podía calcular la velocidad de la síntesis y la degradación del citrato.

Knoop y Martius no llevaron a cabo ningún estudio cuantitativo y estaban limitados al tejido hepático. Hice las mediciones necesarias y encontré que el tejido muscular, igual

que en otros tejidos animales, la velocidad era suficientemente alta para soportar la idea de que los ácidos dicarboxílicos y tricarboxílicos jugaban un papel en la degradación de los alimentos (azúcares, grasas y proteínas). Esta información hizo posible la construcción del ciclo, del cual estos ácidos eran intermediarios.

Contribución de Lipmann

Descubrió como se producía esta reacción:



F. Lipmann

Era acetil-CoA el que reaccionaba con oxalacetato, para formar citrato y CoA libre, CoA puede reaccionar una y otra vez para formar acetil-CoA.

Contribución de Lynen

Lynen demostró que los ácidos grasos también suministraban acetil-CoA al ciclo.

Poco a poco fue quedando claro que parte de los carbonos de las proteínas también acababan formando acetil-CoA.



F. Lynen

Azúcares, grasas y proteínas, principales componentes de los alimentos, suministraban carbono en forma de ácido acético junto con coenzima A para su degradación.

A modo de conclusión

Pienso que para llegar al descubrimiento del ciclo fue crucial el descubrimiento previo del ciclo de la urea 5 años atrás. De alguna forma, mi mente estaba condicionada a ver este tipo de reacciones en el mundo de la vida.

Mi labor en este gran descubrimiento bioquímico fue ordenar y dar forma al puzzle.