

LECCIÓN DE INGRESO  
como Amigo de Número de la  
REAL SOCIEDAD BASCONGADA  
DE LOS AMIGOS DEL PAIS

# LA BIOLOGÍA DEL WOLFRAMIO

Por

Félix María GoñiUrcelay

## I. EXORDIO

Señor Presidente de la Comisión de Bizkaia de la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País, Señoras y Señores:

Siendo yo apenas un niño que comenzaba a actuar en la adolescencia -corrían los primeros años sesenta- se me despertó un interés, que ahora me parece prematuro, por las singularidades, la historia y las tradiciones del País Vasco. No sé bien qué pudo despertar tal curiosidad, pues aunque mis semillas dormidas estaban ciertamente en la familia, en el colegio y en el ambiente de adultos que me rodeaba, sólo excepcionalmente podía alguna de ellas germinar: en el terreno de la cultura.

Lección expuesta en Bilbao el día 29 de Abril de 2003 en el Salón de Actos del Archivo Foral de Bizkaia

# LECCIÓN DE INGRESO como Amigo de Número de la REAL SOCIEDAD BASCONGADA DE LOS AMIGOS DEL PAIS

por

Félix María GoñiUrcelay

## 1. EXORDIO

Señor Presidente de la Comisión de Bizkaia de la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País, Señoras y Señores:

Siendo yo apenas un niño que comenzaba a adentrarse en la adolescencia -corrían los primeros años sesenta- se despertó en mí un interés, que ahora me parece prematuro, por las antigüedades, la historia y las tradiciones del País Vasco. No sé bien qué pudo despertar tal curiosidad, pues aunque sus semillas dormidas estaban ciertamente en la familia, en el colegio y en el ambiente de adultos que me rodeaba, sólo excepcionalmente podía alguna de ellas germinar en el yermo de la cultura de la época. Así pues, eran pocos y dispersos los pozos en los que yo podía entretejer mi sed de conocimientos, reducidos aquéllos casi por completo a las noticias culturales de los periódicos del momento, El Diario Vasco, La Voz de España y Unidad, que por cierto no destacaban por su insistencia en las características diferenciales vascas. Por eso recuerdo de manera muy vívida las ocasionales noticias de la Bascongada, así, con be, grafía que entonces me

chocaba mucho. Pero mucho más me chocaban aquellas referencias a los enigmáticos «caballeritos de Azcoitia» y a aquel Conde de Peñaforida, que para mí era un nombre de instituto y de calle donostiarra, donde paraba el autobús a Irún y Fuenterrabía. La Bascongada me hablaba de un tiempo pretérito, algo mítico y bastante utópico, de una Guipúzcoa poblada por aristócratas filántropos y de unas sociedades ilustradas donde la inteligencia se confundía con la bondad. Ya ven Vds. que todo el celoso cuidado de las autoridades de la época no bastó para impedir que un pobre niño inocente se contaminara con la ponzoña de la Ilustración afrancesada e impía.

Desde entonces la Bascongada ha mantenido para mí una ideal aureola de rigor intelectual y exquisitez de formas, que contrasta con la bronca realidad de las instituciones académicas que hoy se usan. Por eso al recibir, en 1988, la invitación del ilustrado ingeniero y Amigo Don Francisco Albisu para convertirme en Amigo Supernumerario, pensé que comenzaba a vivir uno de mis sueños de adolescencia. Y ahora, cuando, por la generosidad de Don Pascual Román y otros Amigos, me veo convertido en Amigo de Número de la Bascongada, me sueño departiendo con los Peñafloridas y los Narros, y aprendiendo de los Delhuyar y los Proust. Y así es, pues por algo nos enseñó Unamuno que leer es «vivir la vida que otros soñaron»(1). Y antes que él, Quevedo nos dejó escrito que los autores del pasado «hablan despiertos» «... al sueño de la vida»(2).

En un esfuerzo por conectar los momentos gloriosos del pasado de esta Sociedad con mi modesto quehacer profesional actual, he seleccionado la biología del wolframio como tema de mi lección de ingreso. No es un asunto que yo haya investigado personalmente, pero sí está bastante cercano a mis intereses científicos. Quizá sea una sorpresa para los que no se dedican al cultivo de la biología oír que el metal descubierto en Bergara es un componente esencial de ciertos seres vivos, pero lo cierto es que en la última década se ha acumulado un importante cuerpo de conocimientos sobre el papel insustituible del wolframio en algunas reacciones bioquímicas. Así pues, haré un breve repaso de conceptos históricos, químicos y biológicos, y pasaré luego a describir los métodos y los resultados de la biología molecular del wolframio.

## 2. TRES INTRODUCCIONES

La comprensión de esta lección requiere una cierta perspectiva *histórica*. Por lo demás, trata de un metal, el wolframio, estudiado primeramente por la *química*, pero que, por lo que ahora sabemos, juega un papel importante en diversos aspectos de la *biología*. Así pues, el tema requiere una triple introducción sucinta: histórica, química y biológica.

### 2.1. Introducción histórica

Es sobradamente conocido que el wolframio fue aislado por primera vez en 1783, en el Laboratorium Chemicum de Bergara, bajo los auspicios de la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País. Los hermanos Juan José (1754-1796) y Fausto (1755-1833) Delhuyar obtuvieron el nuevo elemento a partir de la wolframita ( $(\text{Fe}, \text{Mn})\text{WO}_4$ ), y presentaron su descubrimiento en las Juntas Generales celebradas por la Bascongada en Vitoria el 28 de Septiembre de aquel año. El trabajo apareció publicado en los «Extractos de las Juntas Generales de la Bascongada» (3). Todas las circunstancias referentes a este descubrimiento, el del único elemento químico aislado por vez primera en la Península Ibérica, han sido detalladamente relatadas en el libro del Amigo Don Pascual Román «Los hermanos Delhuyar, la Bascongada y el Wolframio» (4). El wolframio hizo el número 25 de los elementos químicos conocidos. En la actualidad de han descrito al menos 113.

Simultáneamente al descubrimiento del wolframio se ponían en diversos laboratorios las primeras piedras de lo que luego sería la bioquímica, y en particular la bioquímica de las reacciones de óxido-reducción, en las que está implicado el wolframio. Así, el británico Joseph Priestley (1733-1804) descubrió el oxígeno, y demostró (1770-1774) que los animales lo consumían, mientras que las plantas lo producían. Casi al mismo tiempo, en la década de los 1780, el francés Antoine Lavoisier (1743-1794) observaba que los animales necesitaban oxígeno para vivir, y reconocía que la respiración es una oxidación. Lavoisier fue también el primero en medir el consumo de oxígeno por un ser humano. Un caso llamativo es el del farmacéutico sueco Carl Wilhelm Scheele (1742-1786), relacionado con la historia

del wolframio por haber sido el primero en obtener el trióxido de wolframio,  $WO_3$  (aunque no el wolframio metálico), que fue también pionero de la bioquímica al aislar por vez primera los ácidos cítrico, málico, láctico y úrico, entre otros. Sin embargo, hubo que esperar hasta bien entrado el siglo XX para comprender que el fenómeno de la respiración (oxidación) a nivel molecular era catalizado por proteínas específicas, los enzimas de oxido-reducción, una historia demasiado larga para detallarla aquí, aunque no por compleja menos interesante.

## 2.2. Introducción química

En la obra de John Emsley «Nature's building blocks» (5) podemos ver que el wolframio, de símbolo W, tiene número atómico 74 y masa atómica 183,84, resultado de la mezcla de cinco isótopos (ninguno radiactivo), a saber  $^{184}W$  (31%),  $^{186}W$  (29%),  $^{182}W$  (26%),  $^{183}W$  (14%) y  $^{180}W$  (0,1%). En la Fig. 1 se muestra una representación parcial del sistema periódico de los elementos, original del Prof. José María Macarulla, de la que se deduce fácilmente la estructura electrónica del wolframio ( $1s^2 2s^2p^6 3s^2p^6d^{10} 4s^2p^6d^{10}f^{14} 5s^2p^6d^4 6s^2$ ). Como se observa, el wolframio es un metal de transición, ya que tiene ocupados parcialmente los orbitales 5d, pertenece al sexto período de la tabla periódica, y se halla en el grupo 6, junto con los elementos (más ligeros) cromo y molibdeno. Veremos más adelante la significación biológica de esta común pertenencia del molibdeno y el wolframio al grupo 6. Desde el punto de vista químico, la configuración electrónica de la capa más externa, siempre según la Fig. 1, será  $4d^4 5s^2$  para el Mo, y  $4f^{14} 5d^4 6s^2$  para el W. Los electrones 4f apenas producen variación en las propiedades químicas del elemento, pues se hallan a bastante profundidad en el interior del átomo, de modo que no llegan a ser electrones de valencia en sentido químico. En consecuencia, tanto Mo como W pueden estar en los estados de oxidación 0, IV, V y VI. Así pues los óxidos del wolframio son  $WO_2$ ,  $W_2O_5$  y  $WO_3$ . En la naturaleza, el wolframio se presenta sobre todo en forma de sales:  $FeWO_4$ ,  $CaWO_4$ ,  $(Fe, Mn)WO_4$ .

El wolframio elemental es un metal blanco plateado y lustroso que, cuando no está pulverizado, resiste al ataque del oxígeno, ácidos

## ESTRUCTURA ELECTRÓNICA DE LOS ELEMENTOS

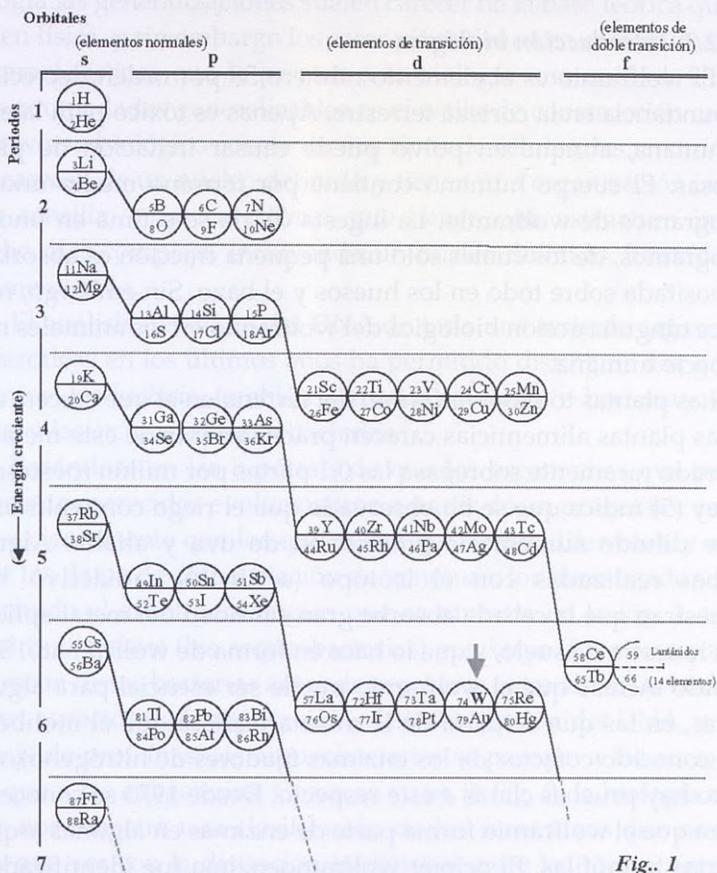


Fig. 1. Representación parcial de la tabla periódica de los elementos químicos, mostrando su estructura electrónica. Tomada de Jiménez-Vargas y Macarulla (6).

y álcalis. Su punto de fusión es de  $3422^{\circ}\text{C}$ , y su punto de ebullición de  $5555^{\circ}\text{C}$ . Su densidad es muy elevada, de  $19,250\text{ g/cm}^3$ , a lo que hace referencia su nombre en sueco (*tung sten*, piedra pesada) de donde ha pasado a otras lenguas (inglés, francés, portugués).

### 2.3. Introducción biológica

El wolframio es el elemento número 58 por orden decreciente de abundancia en la corteza terrestre. Apenas es tóxico para la especie humana, aunque en polvo pueda causar irritación de piel y mucosas. El cuerpo humano contiene por término medio unos 20 microgramos de wolframio. La ingesta diaria se estima en unos 12 microgramos, de los cuales sólo una pequeña fracción es absorbida, y depositada sobre todo en los huesos y el bazo. Sin embargo, no se conoce ninguna acción biológica del wolframio en los animales ni en la especie humana.

Las plantas toman wolframio del terreno en el que crecen, aunque las plantas alimenticias carecen prácticamente de este metal: su contenido raramente sobrepasa las 0,1 partes por millón (peso seco). Emsley (5) indica que se ha observado que el riego con wolframato sódico diluido aumenta la producción de uva y alfalfa. Algunas pruebas realizadas con el isótopo (artificial) radiactivo  $^{185}\text{W}$  demuestran que la cebada absorbe gran cantidad del metal aplicado a una muestra de suelo, y que lo hace en forma de wolframato. Se ha sugerido incluso que el wolframio puede ser esencial para algunas plantas, en las que actuaría de la misma manera que el molibdeno (bien conocido cofactor de los enzimas fijadores de nitrógeno), aunque no hay pruebas claras a este respecto. Desde 1973 se conoce con certeza que el wolframio forma parte de enzimas en algunas arqueobacterias termófilas. El primer wolframoenzima fue identificado en 1983. En la actualidad se conocen 14 enzimas que utilizan el wolframio como parte sustancial de su estructura. El alcance y significado de estos descubrimientos constituye el núcleo de la presente lección de ingreso.

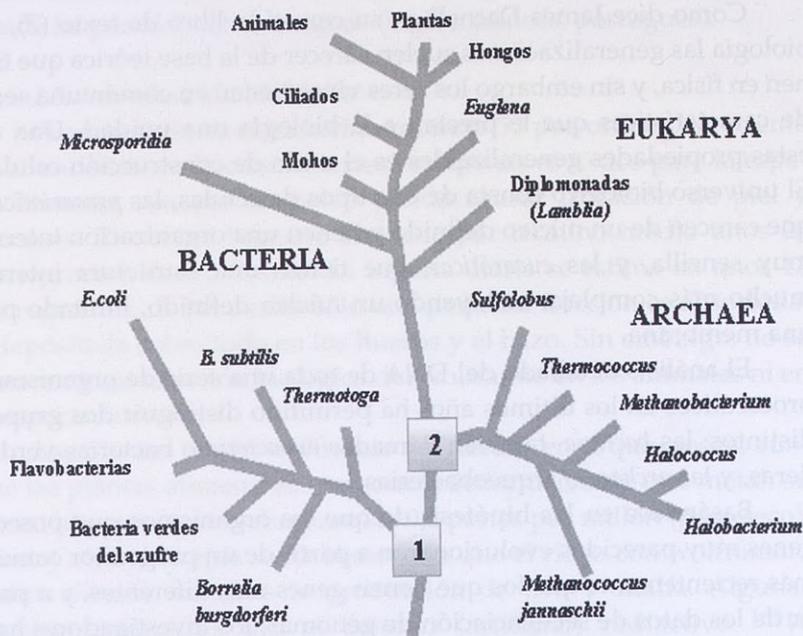
### 3. CONCEPTOS DE BIOLOGÍA MOLECULAR

#### 3.1. Los tres linajes de células vivas

Como dice James Darnell en su conocido libro de texto (7), en biología las generalizaciones suelen carecer de la base teórica que tienen en física, y sin embargo los seres vivos tienen en común una serie de características que le prestan a la biología una unidad. Una de estas propiedades generalizables es el estilo de construcción celular. El universo biológico consta de dos tipos de células, las *procarióticas*, que carecen de un núcleo definido y tienen una organización interna muy sencilla, y las *eucaróticas*, que tienen una estructura interna mucho más compleja, incluyendo un núcleo definido, limitado por una membrana.

El análisis detallado del DNA de toda una serie de organismos procaróticos en los últimos años ha permitido distinguir dos grupos distintos: las *bacteria*, también llamadas *eubacteria* o bacterias verdaderas, y las *archaea* o arqueobacterias.

Basándose en las hipótesis de que los organismos que poseen genes muy parecidos evolucionaron a partir de un progenitor común más recientemente que los que tienen genes más diferentes, y a partir de los datos de secuenciación de genomas, los investigadores han construido el árbol genealógico que se muestra en la Fig. 2. Según este árbol, *archaea* (las arqueobacterias) y *eukarya* (los eucariotas) se separaron de las bacterias antes de separarse entre ellos. De hecho en ciertos aspectos de la replicación y la transcripción del DNA, y de la síntesis de proteínas, las arqueobacterias se parecen a los eucariotas más que a las eubacterias. Como se ve en la Fig. 2, la biología molecular nos muestra una clasificación de los seres vivos que no tiene nada que ver con la distinción tradicional entre los reinos vegetal y animal. En la actualidad se distinguen los tres linajes de bacteria, *archaea* y *eukarya*. Los *archaea* recibieron este nombre porque se pensó, erróneamente, que correspondían a las bacterias más antiguas. Algunos *archaea* colonizan los hábitats más inhóspitos de la biosfera, como los que viven en salinas con altísima concentración de sal (*Halobacterium*), o en los geysers (*Sulfolobus*). Las bacterias que utilizan wolframio pertenecen al linaje de las arqueobacterias, y



- 1 Supuesto progenitor común de todos los organismos actuales.
- 2 Supuesto progenitor común de arqueobacterias y eucariotas.

Fig. 2. Arbol genealógico que muestra los tres linajes de células vivas, eubacteria, archaea y eukarya, obtenido del análisis comparativo de los genomas. Tomada de Lodish y cols. (7).

requieren alta temperatura y ausencia de oxígeno (anaerobiosis) para sobrevivir.

### 3.2. Enzimas y cofactores

Como el wolframio interviene en la biología precisamente formando parte de enzimas y cofactores, conviene presentar brevemente estos conceptos. Los biólogos moleculares interpretamos la vida como un conjunto ordenado de procesos físico-químicos. Ahora bien, los seres vivos no llevan a cabo ninguna reacción química que no se pueda producir en el tubo de ensayo, en el laboratorio. La peculiaridad físico-química de los seres vivos no radica en las reacciones que llevan a cabo, sino en las *condiciones* en que transcurren dichos procesos. En concreto, las reacciones químicas en los seres vivos transcurren siempre con la ayuda de *catalizadores*, o sea, sustancias que facilitan enormemente la reacción pero no se consumen en ella, como lo hacen los reactivos, antes bien emergen de la reacción en su estado original. Los catalizadores de las reacciones químicas en los seres vivos reciben el nombre de *enzimas*. Los enzimas son catalizadores altamente específicos: cada reacción bioquímica requiere su propio enzima (8). Los enzimas son, en su inmensa mayoría, *proteínas*, es decir, sus estructuras básicas son largas cadenas de aminoácidos unidos de cabeza a cola por enlaces de tipo amida. Sin embargo, el mecanismo catalítico requiere a menudo que, además del enzima propiamente dicho, actúen unas moléculas más pequeñas, de naturaleza no proteica, conocidas globalmente con el nombre de *cofactores*. Como veremos, el wolframio se integra en los enzimas de los que forma parte precisamente a través de un cofactor.

### 3.3. Oxido-reducciones biológicas

Algunas de las reacciones bioquímicas más importantes son reacciones de oxido-reducción, o reacciones redox. Se llaman así a las reacciones en las que el proceso químico consiste en la *transferencia de electrones* de unos reactantes a otros. El reactante que cede los electrones es el *reductor*; el reactante que capta los electrones cedidos por el reductor es el *oxidante*. Reducción equivale, por lo tanto, a cesión de electrones. Debemos insistir una vez más en que las reacciones redox

no son exclusivas de los seres vivos, ni mucho menos, lo que ocurre es que en los seres vivos estas reacciones desempeñan un papel muy importante. Por otra parte, desde luego, las reacciones redox biológicas están catalizadas por enzimas específicos, como ocurre con todos los procesos bioquímicos. Y, ¿cuál es el papel de las reacciones redox en los seres vivos? Pues el más importante es, muy sencillamente, la respiración. En efecto, como ya se ha mencionado más arriba, sabemos desde Lavoisier que la respiración es un proceso redox. En lenguaje de hoy, el proceso de la respiración a nivel molecular consiste en que electrones cedidos por los nutrientes (azúcares, grasas, etc. ) se utilizan para *reducir* un receptor de electrones, liberando en el proceso una gran cantidad de energía que, normalmente, se utiliza para sintetizar el trifosfato de adenosina o ATP, el más frecuente almacén de energía química en la célula (9). En las formas de vida que conocemos más directamente, como en la especie humana y en la mayoría de los animales, el receptor final de electrones en la respiración es el *oxígeno*. Pero no siempre es así. Hay organismos (casi siempre bacterias, pero también animales, algunos tan poco exóticos como el mejillón) que pueden, algunos deben, vivir en condiciones *anaerobias*, o sea, en ausencia de oxígeno. Estos organismos anaerobios también respiran, pero cediendo los electrones (reduciendo) a oxidantes distintos del oxígeno, como el sulfato o el fumarato.

En la respiración, sea aerobia o anaerobia, los electrones no pasan directamente de los nutrientes al receptor final, por ejemplo oxígeno. Esto significaría una liberación brutal de energía en un solo paso, lo que sería incompatible con la vida. En lugar de eso, en la respiración a nivel molecular los electrones se van transfiriendo de una molécula a otra, que pasa de estar reducida (al captar los electrones) a estar oxidada (al liberarlos). Estas moléculas constituyen otros tantos eslabones de una cadena en la que los electrones van liberando su energía gradualmente. El conjunto de moléculas o eslabones constituye lo que se llama una *cadena respiratoria*. Las cadenas respiratorias de todos los seres vivos conocidos presentan bastantes características comunes. Por supuesto, el paso de electrones de una molécula a otra está siempre catalizado por enzimas de oxidoreducción. El wolframio

en los seres vivos aparece formando parte de enzimas de oxidoreducción de arqueobacterias anaerobias.

### 3.4. Los elementos pesados en las biomoléculas

Como es bien sabido los bioelementos, o elementos que integran los seres vivos, pertenecen sobre todo al primer y segundo períodos de la Tabla: hidrógeno ( ${}_1\text{H}$ ), carbono ( ${}_6\text{C}$ ), nitrógeno ( ${}_7\text{N}$ ) y oxígeno ( ${}_8\text{O}$ ). Menos abundantes, pero no infrecuentes, son otros bioelementos del tercer período como sodio ( ${}_{11}\text{Na}$ ), magnesio ( ${}_{12}\text{Mg}$ ), fósforo ( ${}_{15}\text{P}$ ), azufre ( ${}_{16}\text{S}$ ), cloro ( ${}_{17}\text{Cl}$ ) y potasio ( ${}_{19}\text{K}$ ), de los cuales Na, Cl y K aparecen casi exclusivamente en forma de los iones inorgánicos  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y  $\text{K}^+$ . El calcio ( ${}_{20}\text{Ca}$ ), perteneciente al cuarto período, representa una situación intermedia en varios sentidos. Por una parte, es menos abundante que los elementos más ligeros mencionados, pero más que los elementos pesados que se dan a continuación. Por otra, sus numerosas funciones varían desde las meramente estructurales, como en los fosfatos de calcio que forman parte del hueso, hasta las altamente dinámicas, como cuando los iones  $\text{Ca}^{2+}$  actúan como segundos mensajeros en la transmisión de señales hormonales, o en el desencadenamiento de la contracción muscular.

De los elementos más pesados que el calcio, sólo el hierro ( ${}_{26}\text{Fe}$ ) aparece en los seres vivos en cantidades que superen el nivel de «trazas». El hierro juega un importante papel en el transporte de oxígeno por la sangre, al formar parte de la hemoglobina, y también es esencial como cofactor de oxidoreducción, al estar presente en los grupos hemo de los citocromos, y en los llamados «complejos hierro-azufre» de numerosos enzimas de oxidoreducción (algunos de los cuales contienen también wolframio). El resto de los elementos pesados se hallan presentes sólo en biomoléculas muy concretas. Naturalmente, esto no significa que sean menos importantes. Casi todas las moléculas que forman parte de los seres vivos son esenciales para su supervivencia, con independencia de que se hallen en cantidades grandes o pequeñas. Entre las funciones biológicas de los elementos más pesados que el calcio, aparte del ya citado caso del hierro, mencionaremos dentro del cuarto período el vanadio ( ${}_{23}\text{V}$ ), un cofactor de la nitrogenasa (el enzima bacteriano que «fija» el nitrógeno del aire, convirtiéndolo en

amoniaco), el manganeso ( $_{25}\text{Mn}$ ), que interviene en el complejo de liberación de oxígeno en las plantas verdes, el cobalto ( $_{27}\text{Co}$ ), que forma parte de la molécula de la vitamina B12, o cobalamina, el cobre ( $_{29}\text{Cu}$ ), un cofactor de importantes enzimas de oxido-reducción en la cadena respiratoria mitocondrial, el zinc ( $_{30}\text{Zn}$ ) que aparece, entre otras, en numerosas proteínas que se unen al DNA, y el selenio ( $_{34}\text{Se}$ ), uno de los raros no-metales pesados con función biológica, que integra el poco usual aminoácido selenocisteína.

Son más escasos los bioelementos del quinto período. Aparte del molibdeno ( $_{42}\text{Mo}$ ), ya mencionado, y del que volveremos a tratar, sólo está el yodo ( $_{53}\text{I}$ ), el más pesado de los no-metales con función biológica conocida. El yodo forma parte de las moléculas de las hormonas tiroideas, tiroxina y triiodotironina. Finalmente, en el sexto período nos encontramos solamente al wolframio ( $_{74}\text{W}$ ), el más pesado de los bioelementos conocidos.

#### 4. ASPECTOS METODOLÓGICOS

Nuestros conocimientos actuales sobre los enzimas que contienen wolframio se han obtenido, en general, con la metodología típica de la bioquímica: ensayos enzimáticos y purificación de proteínas. Pero, además, algunas técnicas biofísicas han tenido un papel protagonista (10). Las enumeramos a continuación, con una breve descripción cualitativa de las mismas.

**Difracción de rayos X.** Es la técnica más utilizada para obtener la estructura de las proteínas resuelta a nivel atómico, es decir, indicando la posición en el espacio de cada uno de los cientos o miles de átomos que componen una molécula de proteína. El fenómeno de la difracción obedece a la ley de Bragg, que relaciona el ángulo de la radiación difractada con la distancia entre dos átomos. Los estudios de difracción de rayos X requieren que la proteína se halle en forma de cristal. Esto no es fácil, y a menudo la cristalización de la proteína es el cuello de botella de todo el procedimiento de análisis de la estructura. Actualmente conocemos la estructura, determinada por difracción de rayos X, de unas 10.000 proteínas, y este número crece,

literalmente, de día en día. La primera estructura, resuelta por rayos X, de un enzima que contenía wolframio fue publicada en 1995 (11).

**Absorción de rayos X.** La espectroscopía de absorción de rayos X estudia la absorción de esta radiación por una muestra en función de la energía de los rayos X. Conforme se va aumentando la energía, se observa que la absorción es muy escasa hasta que se alcanza un umbral en el que los rayos X tienen suficiente energía como para ionizar el átomo metálico (en nuestro caso de un enzima) liberando un electrón. El electrón choca con los átomos contiguos al átomo ionizado, y la onda electrónica se ve reforzada o destruida, dependiendo de la distancia entre los átomos y de la longitud de dicha onda. Como consecuencia se obtiene un conjunto de ondas sinusoidales, el espectro de absorción, con una contribución de cada tipo de átomo en la vecindad del átomo ionizado. Esta clase de espectros proporcionan lo que se llama EXAFS (del inglés *X-ray absorption fine structure*), o estructura fina de la absorción de rayos X. El EXAFS permite analizar con gran precisión (a menudo  $< 0,005$  nm) las distancias entre el átomo metálico y sus ligandos (átomos a los que está enlazado), y tiene además la ventaja de que las muestras no necesitan estar cristalizadas.

**Espectroscopía ENDOR.** Las siglas corresponden al inglés *electron-nuclear double resonance*. Se trata de un método derivado de la resonancia paramagnética electrónica (*electron paramagnetic resonance*, EPR). La técnica detecta un núcleo resonante, como en la resonancia magnética nuclear, pero de modo indirecto, a través del efecto que dicho núcleo tiene sobre la señal EPR de un centro paramagnético cercano, normalmente un electrón no apareado de un átomo metálico al cual está acoplado magnéticamente. Las características del acoplamiento pueden revelar la naturaleza química del núcleo acoplado, así como su distancia y orientación con respecto al metal.

**Resonancia Raman.** Cuando los fotones interactúan con la materia, en la mayoría de los casos son dispersados elásticamente, o sea, cambian de dirección sin perder energía, como las bolas de billar al chocar unas con otras. Pero, de vez en cuando, la radiación excita vibracionalmente un enlace químico en la muestra, y el fotón dispersado emerge con menos energía de la que tenía originalmente. La

diferencia de energía se llama «desplazamiento Raman», en honor del físico indio C.V. Raman (1888-1970), y se registra en la región infrarroja del espectro electromagnético. La dispersión Raman es un fenómeno muy poco frecuente, pero cuando la longitud de onda del fotón incidente coincide con una banda de absorción de la muestra, la probabilidad de que se produzca efecto Raman aumenta enormemente: en esto consiste la resonancia Raman. El método «selecciona» sólo unos pocos enlaces químicos en los que está implicado el metal, ignorando a todo el resto de los enlaces de la proteína, y proporciona información directa sobre el tipo de metal y la energía de los enlaces.

## 5. WOLFRAMOENZIMAS

Proponemos esta designación de wolframoenzimas para traducir el término *tungstoenzymes* de la literatura anglosajona. Comenzamos por algunas consideraciones de tipo evolutivo y de bioquímica comparada, para seguir analizando la estructura de algunos wolframoenzimas, y terminar examinando posibles mecanismos de reacción. En este apartado seguimos los trabajos de Holm y cols. (12), Johnson y cols. (13) y Hille (14).

### 5.1. Aspectos evolutivos

Numerosos metales de transición (entre los que se encuentra el W, ver apartado 2.2) actúan como cofactores de proteínas (12). Se cree que los átomos metálicos añaden nuevas propiedades catalíticas a las que poseerían las proteínas por sí solas. En las metaloproteínas, los metales de transición pueden hallarse directamente unidos a los aminoácidos que constituyen la proteína, formando compuestos de coordinación con las cadenas laterales de los aminoácidos histidina, cisteína, serina o tirosina, o con los grupos amida o carbonilo de los enlaces peptídicos. Otras veces, los metales de transición forman parte de un cofactor más complejo, que contiene junto a la parte metálica otra orgánica. Un ejemplo conocido de este último caso es el grupo hemo, que contiene un metal, el hierro, y una parte orgánica, un anillo de porfirina. El grupo hemo actúa como un «grupo

prostético» (se da este nombre a los cofactores fuertemente unidos a las proteínas) de la proteína hemoglobina, responsable del transporte del oxígeno a través de la sangre, y de otras proteínas, los citocromos, implicadas en la respiración a nivel celular.

Casi todas las formas de vida conocidas necesitan molibdeno para alguna de sus funciones esenciales, y las que no utilizan molibdeno, requieren su análogo del sexto período, el wolframio. Uno y otro pueden participar en reacciones redox en las condiciones fisiológicas de la célula. Como pueden pasar del estado de oxidación IV al V, y de éste al VI, o viceversa, pueden aceptar o donar uno o dos electrones, y en consecuencia, pueden actuar como transductores o conectores entre sistemas redox que intercambian electrones obligadamente de dos en dos y otros que lo hacen de uno en uno. Sin embargo, es importante señalar que Mo y W no son intercambiables en los sistemas biológicos. Diversos organismos, incluyendo plantas verdes y ratas, que poseen normalmente molibdoenzimas pero no wolframoenzimas, han sido expuestos a dosis altas de W, con el resultado de que los escasos enzimas producidos con W en vez de Mo apenas tenían actividad.

Según Johnson y cols. (13), el wolframio habría sido utilizado por los seres vivos antes que el molibdeno, en las condiciones de elevada temperatura y ausencia de oxígeno en las que parece que comenzó la vida. Los enlaces wolframio-azufre que, como veremos, se dan en los wolframoenzimas, son más estables que sus análogos con molibdeno. Los sulfuros de wolframio(IV) son también más solubles en agua que los de molibdeno(IV), y por ello estarían más accesibles a los seres vivos en la atmósfera fuertemente reductora de la Tierra primitiva. Además los potenciales de reducción (una medida del poder reductor de un compuesto) de los complejos de W son más bajos (300-400 mV más negativos) que los de sus análogos de Mo, y probablemente más útiles para las células primitivas, que se cree funcionaban con sistemas redox más reductores (potenciales de reducción más negativos) que en la actualidad.

Sin embargo, los compuestos de W son mucho más sensibles al oxígeno que los de Mo, de modo que, cuando la temperatura de la corteza terrestre bajó, la estabilidad de los enlaces W-S no fue tan

importante, y, por el contrario, la aparición de oxígeno en la atmósfera como resultado de la fotosíntesis supuso un factor de selección favorable al Mo. Además, en las nuevas condiciones oxidantes, los óxidos de molibdeno(VI) eran más hidrosolubles que los de wolframio(VI). Finalmente, en los organismos aeróbicos (que crecían en presencia de oxígeno), el potencial redox intracelular se hace más oxidante, lo que también hace más útiles a los catalizadores basados en el Mo. Como consecuencia de todos estos cambios, es posible que la transición de una atmósfera reductora a otra oxidante fuera acompañada por una sustitución del W por el Mo en el centro activo de algunos enzimas. Esta hipótesis está apoyada por la distribución actual del molibdeno y el wolframio en los seres vivos: los organismos aerobios contienen molibdoenzimas, mientras que los wolframoenzimas se presentan en organismos anaerobios, que viven a altas temperaturas. Algunos microorganismos anaerobios que viven a temperaturas moderadas representan un caso intermedio, pues pueden utilizar Mo o W según la disponibilidad del metal y las condiciones de crecimiento.

### 5.2. El cofactor pterina

En todos los enzimas que contienen wolframio (y en la mayoría de los que contienen molibdeno) el metal se presenta unido a un cofactor orgánico, la pterina, formando un compuesto de coordinación con dos grupos tiol en uno de los anillos (Fig. 3). El complejo W-pterina forma parte del centro activo de los wolframoenzimas, como el complejo Fe-porfirina (el grupo hemo) forma parte del centro activo de hemoglobinas y citocromos. La vía metabólica para la síntesis del cofactor pterina incluye más de doce enzimas, y parece estar universalmente conservada en la biología. Se conocen algunos organismos que carecen del grupo hemo (como los lactobacilos, y algunos enterococos), pero todos los organismos conocidos contienen la vía biosintética para la pterina. Esto da una idea tanto de la temprana aparición del cofactor pterina en el curso de la evolución, como de la importancia de los procesos en los que está implicado.

El papel catalítico concreto del cofactor pterina en los wolframoenzimas y los molibdoenzimas no está totalmente aclarado. En

aquellos enzimas cuya estructura tridimensional es conocida, el cofactor esta «enterrado» en la proteína, y no expuesto al canal accesible al disolvente, a través del cual el sustrato llega al centro activo, por lo que se supone que la pterina no participa directamente en el ciclo catalítico. Sin embargo, parece que el cofactor modula la reactividad y/o el potencial redox del centro activo, además de participar en el flujo de electrones hacia o desde el átomo metálico. En este contexto, se ha sugerido que el grupo amino ( $\text{NH}_2$ ) de la pterina (Fig. 3) se halla unido por un enlace de hidrógeno a un residuo cisteína de un centro hierro-azufre cercano.

### 5.3. Clasificación de las wolframoenzimas

Todos los wolframoenzimas conocidos provienen de bacterias o de archaea. Se pueden clasificar en tres grupos:

**Familia AOR.** Sus miembros más representativos son la aldehído: ferredoxina oxido-reductasa, abreviadamente AOR, que da nombre a la familia, y la formaldehído: ferredoxina oxido-reductasa, ambas de archaea hipertermófilas como *Pyrococcus furiosus*, que vive a temperaturas cercanas a los  $100^\circ\text{C}$  (15, 16). Ambos enzimas tienen una estructura muy parecida, la AOR con dos y la formaldehído:

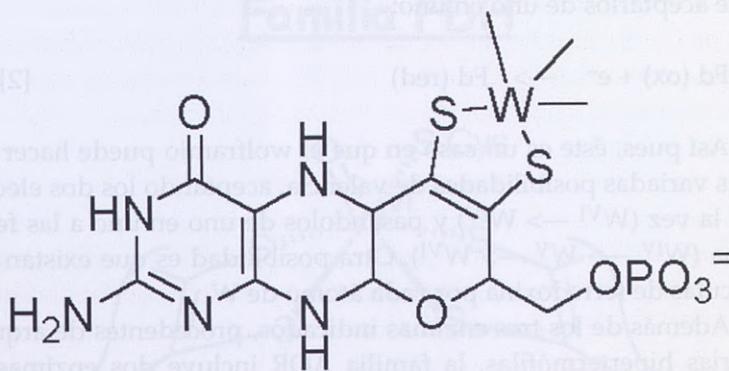
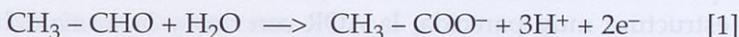


Fig. 3.

ferredoxina oxido-reductasa con cuatro subunidades idénticas por molécula, cada subunidad formada por una cadena polipeptídica de unos 600 aminoácidos. Cada subunidad contiene dos moléculas de pterina y un átomo de W. Un tercer enzima, menos conocido, de esta familia es la gliceraldehído-3-fosfato: ferredoxina oxido-reductasa, formado por un solo polipéptido, por lo demás homólogo a los de los dos enzimas anteriores. Los enzimas de esta familia catalizan la oxidación de aldehídos a ácidos carboxílicos, y transfieren los electrones resultantes a la ferredoxina, una proteína que contiene un grupo hierro-azufre [4Fe-4S]. La ferredoxina aparece en las cadenas respiratorias de numerosos organismos. Los centros activos de estos enzimas contienen W coordinado a dos moléculas del cofactor pterina, sin ningún ligando proporcionado por el polipéptido (Fig. 4). En su forma oxidada ( $W^{VI}$ ) el enzima parece tener un  $W^{VI} = O$  y un  $W^{VI} - OH$ , como se muestra en la Fig. 4, mientras que el enzima reducido tendría sólo un  $W^{IV} - OH$  (15). La oxidación de los aldehídos, que es la reacción que catalizan todos los miembros de la familia AOR, es un proceso en el que participan dos electrones:



Sin embargo, la ferredoxina (Fd) que recibe los electrones sólo puede aceptarlos de uno en uno:

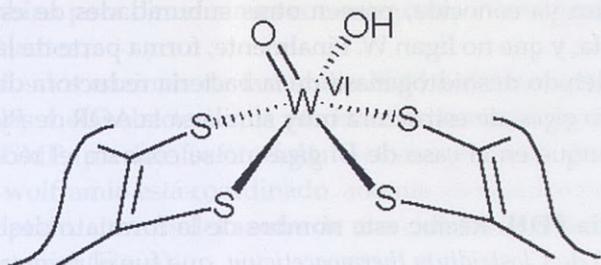


Así pues, éste es un caso en que el wolframio puede hacer uso de sus variadas posibilidades de valencia, aceptando los dos electrones a la vez ( $W^{VI} \longrightarrow W^{IV}$ ) y pasándolos de uno en uno a las ferredoxina ( $W^{IV} \longrightarrow W^V \longrightarrow W^{VI}$ ). Otra posibilidad es que existan dos moléculas de ferredoxina por cada átomo de W.

Además de los tres enzimas indicados, procedentes de arqueobacterias hipertermófilas, la familia AOR incluye dos enzimas de eubacterias mesófilas, o sea, que viven a temperaturas moderadas. Son la carboxilato reductasa de *Clostridium* y la aldehído deshidrogenasa de *Desulfovibrio*. La carboxilato reductasa recibió este nombre

por su capacidad de reducir grupos carboxilo a aldehído, pero también cataliza el proceso inverso, y de hecho, en las condiciones celulares, el enzima parece funcionar en el sentido de la oxidación. Distintas especies de *Clostridium* contienen diferentes carboxilato reductasas. La de *Clostridium formicoaceticum* está formada por dos

### Familia AOR



### Familia FDH

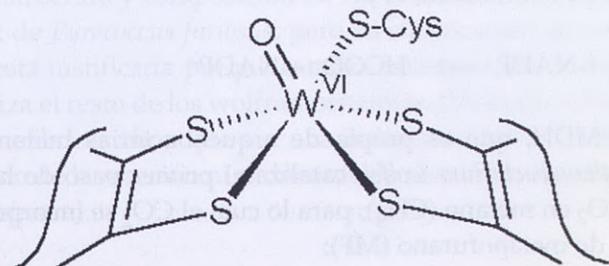
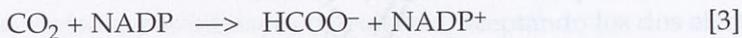


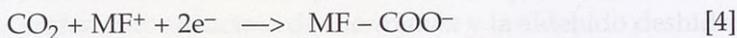
Fig. 4

subunidades homólogas a las de los otros miembros de la familia AOR. Conforme a lo comentado anteriormente sobre la sustitución de W por Mo en la evolución, cuando *C. formicoaceticum* se cultiva con Mo en ausencia de W, se produce un análogo de la carboxilato reductasa que contiene Mo y mantiene parcialmente las propiedades catalíticas. En este contexto de biología comparada, es interesante observar que se conoce, en la bacteria mesófila *Proteus vulgaris* un enzima, la hidroxicarboxilato: viológeno oxido-reductasa, que contiene una cadena homóloga a las de la familia AOR, y molibdeno como metal. Por otra parte, otro clostridio, *C. thermoaceticum*, contiene dos formas distintas de carboxilato reductasa, que, además de la subunidad catalítica ya conocida, poseen otras subunidades de estructura muy distinta, y que no ligan W. Finalmente, forma parte de la familia AOR la aldehído deshidrogenasa de la bacteria reductora de sulfato *Desulfovibrio gigas*, de estructura muy similar a la AOR de *Pyrococcus furiosus*, aunque en el caso de *D. gigas* no se conozca el receptor de electrones.

**Familia FDH.** Recibe este nombre de la formiato deshidrogenasa (FDH) de *Clostridium thermoaceticum*, que fue el primer wolframoenzima purificado. Los enzimas de esta familia son capaces de «fijar» CO<sub>2</sub>, incorporándolo a moléculas orgánicas. Forman parte de esta familia al menos dos enzimas, el que le da nombre, y la N-formilmetanofurano deshidrogenasa (FMDH). La FDH cataliza el primer paso de la conversión de CO<sub>2</sub> en acetato, que es la producción de formiato, utilizando el coenzima NADPH como dador de electrones (en forma de ion hidruro, H<sup>-</sup>):



La FMDH, que es propia de arqueobacterias metanogénicas como *Methanobacterium wolfei*, cataliza el primer paso de la conversión de CO<sub>2</sub> en metano (CH<sub>4</sub>), para lo cual el CO<sub>2</sub> se incorpora a una molécula de metanofurano (MF):

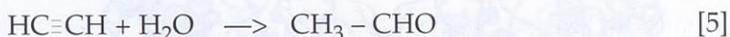


El donante de electrones en las condiciones celulares no se conoce.

Los enzimas de la familia FDH poseen estructuras cuaternarias complejas, con tres o cuatro subunidades diferentes. Sin embargo, en todos los casos hay una subunidad, la que contiene el W, muy similar a la de molibdoenzimas conocidos, como la formiato deshidrogenasa de *Methanobacterium formicicum*, o la nitrato reductasa de *Escherichia coli*. De hecho, las metanobacterias que producen wolframoenzimas de la familia FDH parecen producir también isoenzimas con molibdeno cuando los dos metales se hallan presentes en el medio de cultivo. Este es el único caso conocido en el que Mo y W se intercambian para dar enzimas con estructura y actividades catalíticas semejantes.

Todos los enzimas de la familia FDH contienen pterina. En el caso de las metanobacterias, la pterina está formando un dinucleótido con GMP (pterina-fosfato-fosfato-ribosa-guanina). En la familia FDH, el wolframio está coordinado, además de con dos pterinas, con el polipéptido, a través del azufre de una cisteína (o el selenio de una selenocisteína) (Fig. 4).

**Familia AH.** La tercera familia de wolframoenzimas está representada, por el momento, por un solo miembro, la acetileno hidratasa (AH) de *Pelobacter acetylenicus*, que cataliza la reacción:



Su estructura y composición en subunidades son muy similares a la AOR de *Pyrococcus furiosus*, pero su clasificación en una familia distinta está justificada porque cataliza una reacción distinta de las que cataliza el resto de los wolframoenzimas. (De hecho tampoco hay ningún molibdoenzima que sea una hidratasa). No se conocen ni el mecanismo de la reacción ni el donante de electrones fisiológico (si es que se requiere).

#### 5.4. Estudios estructurales

Hasta el momento, el único wolframoenzima cuya estructura ha sido resuelta a nivel atómico (por difracción de rayos X), es la

AOR de la arqueobacteria termófila *Pyrococcus furiosus* (11, 15). Como se ha comentado más arriba, la AOR se presenta en forma de dímero (Fig. 5). Cada subunidad contiene un W coordinado con dos pterinas, y, en su cercanía, un complejo [4Fe-4S]. El Fe más cercano está a  $\approx 8 \text{ \AA}$  del W. Los dos wolframios del dímero están separados por  $\approx 50 \text{ \AA}$ . El plegamiento del polipéptido es característico y exclusivo de la AOR. Cada subunidad se organiza en tres dominios (Fig. 6), con los centros W-pterina y [4Fe-4S] situados en las interfases entre dichos dominios. El dominio 1, N-terminal, (residuos 1 a 210) forma una base sobre la que se sitúa el W-pterina, mientras que los dominios 2 (residuos 211-417) y 3 (residuos 418-605) recubren el complejo W-pterina y proporcionan residuos aminoácido que interaccionan específicamente con los distintos centros metálicos a través de enlaces polares e iónicos (Fig. 6C). El dominio 1 tiene una llamativa simetría binaria, con dos mitades que contienen cada una seis hojas plegadas  $\beta$  y tres helicoides  $\alpha$ .

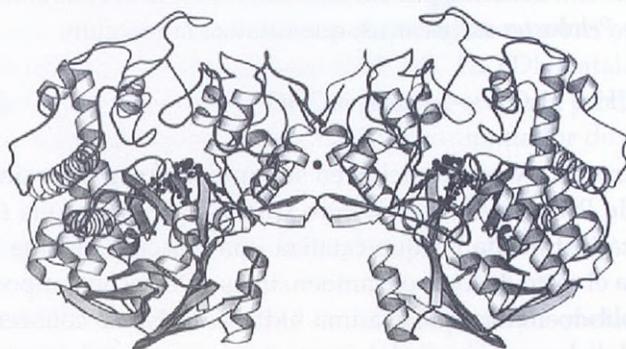


Fig. 5.

Los dominios 2 y 3 son aproximadamente simétricos uno de otro (Fig. 6D), aunque la simetría no es tan llamativa como la del dominio 1. La estructura de los dominios 2 y 3 es fundamentalmente helicoidal, con 14 y 11 helicoides  $\alpha$  respectivamente. Además, el dominio 2 contiene una corta región en hoja plegada  $\beta$  que contiene el motivo CxxCxxxC (donde C es una cisteína, y x puede ser cualquier aminoácido) para las cisteínas coordinadas con el centro hierro-azufre. La antes mencionada cercanía de este centro [4Fe-4S] a una de

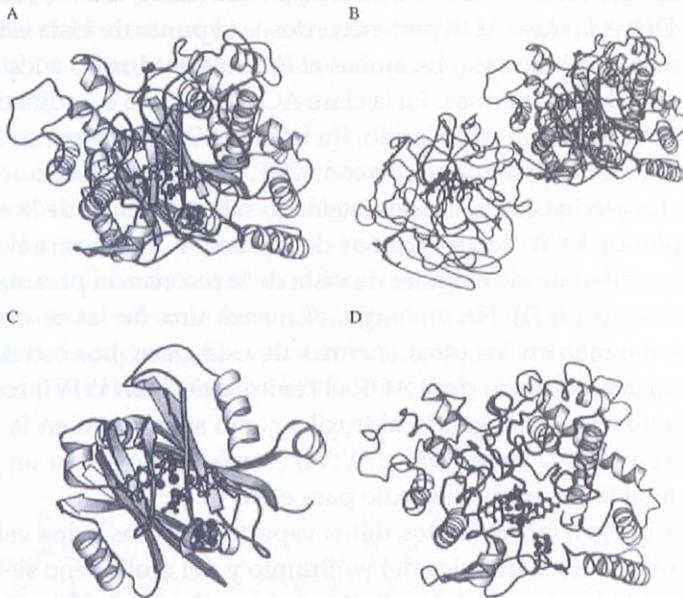


Fig. 6.

las pterinas confirma que este cofactor juega un papel importante en el movimiento de electrones desde y hacia el wolframio en el enzima.

Además de interactuar con la pterina, los dominios 2 y 3 quizá puedan regular el acceso de los sustratos al centro activo del enzima. La interfase entre estos dos dominios forma un conducto hidrofóbico de unos 15 Å de longitud, que conduce desde el wolframio a la superficie de la proteína. El conducto parece suficientemente grande como para acomodar a los diversos aldehidos, tanto alifáticos como aromáticos, que el enzima acepta como sustratos.

Por lo que se refiere a las técnicas espectroscópicas distintas de la difracción de rayos X, el conjunto de estos estudios, resumido por Johnson y cols. (13), indica que los wolframoenzimas se pueden dividir, desde el punto de vista estructural, en dos clases, la clase AOR y la clase FDH. A la clase AOR pertenece, desde el punto de vista estructural, la acetileno hidratasa. En ambas el W está coordinado a los cuatro grupos SH de dos pterinas. En la clase AOR, el W está coordinado sólo a las pterinas, y no al polipéptido. En la clase FDH, las pterinas se presentan en forma de dinucleótido con GMP, y el W se halla coordinado tanto a las pterinas como a una cisteína (o selenocisteína) de la cadena polipeptídica. El W de los enzimas de la clase AOR muestra bastante heterogeneidad desde el punto de vista de la resonancia paramagnética electrónica (EPR). Sin embargo, al menos una de las resonancias aparece también en los otros enzimas de esta clase. Los estudios de EPR sugieren que en la clase AOR el centro activo con W(VI) contiene un ligando oxo y un ligando hidroxilo, como se muestra en la Fig. 4, mientras que en la clase FDH el W(VI) estaría ligado sólo a un grupo oxo, que sería un grupo hidroxilo para el W(V).

La interpretación de los datos espectroscópicos y los estudios comparativos de la química del wolframio y del molibdeno se verían muy facilitados por la disponibilidad de análogos sintéticos de los centros activos de W y Mo, que pudieran ser bien caracterizados estructuralmente. Sin embargo, la química de los complejos W-oxo con ligandos de S está poco desarrollada, sobre todo por la dificultad de reducir las especies W(VI) a las correspondientes W(IV). A pesar de todo se dispone en la actualidad de algunos modelos funcionales con W en sus tres estados de valencia, coordinado con ligandos

bis(ditolato) (Fig. 7). Los estudios con estos modelos funcionales han confirmado la hipótesis de que la coordinación a cuatro SH de las dos pterinas puede ser esencial para que el W de los wolframoenzimas, en sus estados (IV), (V) y (VI), muestre potenciales redox suficientemente bajos (potenciales de reducción negativos) para catalizar las transformaciones de aldehído en ácido.

#### 5.4. Mecanismos de reacción

Los mecanismos de reacción de los wolframoenzimas son poco conocidos, en gran parte debido a la escasez de datos sobre la estructura atómica de estos enzimas. Las ideas que, de modo hipotético, se manejan en la actualidad sobre los mecanismos de reacción están basadas, por una parte, en la similitud de algunos wolframoenzimas con molibdoenzimas cuyo mecanismo catalítico se conoce, y por otra, en estudios sobre modelos funcionales como los que hemos descrito más arriba.

Hay dos molibdoenzimas cuyo mecanismo se ha estudiado con bastante detalle, son la dimetilsulfóxido reductasa y la xantina oxidasa. En estos casos, los avances en la comprensión del mecanismo se han producido por una combinación de estudios de química inorgánica sintética, estudios de ordenador, técnicas espectroscópicas y métodos cinéticos, todo sobre la base de la estructura atómica resuelta por difracción de rayos X. El centro activo de la dimetilsulfóxido reductasa es similar al de la familia FDH de wolframoenzimas, excepto que

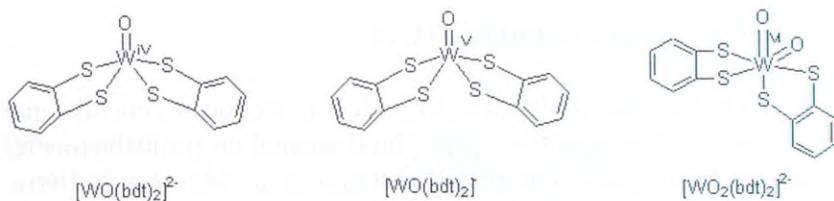


Fig. 7.

en estos últimos el W está coordinado con el S de una cisteína (Fig. 4) mientras en los primeros el Mo está ligado al O de una serina.

Hille (14) ha propuesto un ciclo catalítico mínimo para la dimetil-sulfóxido reductasa, mientras que Webster y Hall (18) han sugerido una estructura para el estado de transición. Nosotros hemos adaptado estas propuestas al caso de los wolframoenzimas, y presentamos en la Fig. 8 un ciclo catalítico hipotético para los wolframoenzimas de la familia FDH, incluyendo una posible estructura del estado de transición. En el esquema, el enzima reducido  $L_2W^{IV}(S-Cys)$  reacciona con  $CO_2$  para dar la forma oxidada  $L_2W^{VI}O(S-Cys)$ . A continuación, el enzima oxidado recupera la forma reducida con electrones del coenzima NADPH, un reductor biológico muy frecuente. Por analogía con el dimetilsulfóxido, sugerimos que el oxígeno unido a  $W^{VI}$  procede del  $CO_2$ , y es finalmente eliminado en forma de agua. La reacción suma de los procesos indicados en la Fig. 8a es la propuesta en la ecuación [3].

Nótese que en la forma reducida del enzima, el  $W^{IV}$  está formando un complejo de coordinación en forma de pirámide cuadrada, mientras que en la forma oxidada el  $W^{VI}$  tiene una geometría aproximadamente octaédrica. La geometría del estado de transición (Fig. 8b) recuerda más bien a la del complejo en su estado reducido, lo que sugiere que la parte proteica del enzima reducido mantiene al complejo metálico en una estructura similar al estado de transición. Esto estaría de acuerdo con la idea de que los enzimas aceleran las velocidades de reacción estabilizando el estado de transición, y reduciendo de esta manera la energía de activación de la reacción.

## 6. CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS

De lo que hemos visto a lo largo de esta lección se concluye que el wolframio desempeñó un papel fundamental en (probablemente) todos los seres vivos en un período remoto de la vida sobre la Tierra, cuando la temperatura de la corteza era más alta que ahora, y la ausencia de fotosíntesis oxigénica hacía que la atmósfera fuera mucho más reductora que en la actualidad. La posterior evolución y aparición del oxígeno ha limitado el uso del wolframio a microorganismos

que viven en condiciones similares a las primitivas (ausencia de oxígeno y temperatura elevada) como las que se dan, por ejemplo, en las corrientes de aguas termales que afloran en el fondo de los océanos.

Es igualmente importante señalar que, en las «nuevas» condiciones de la biosfera, el wolframio fue sustituido precisamente por el molibdeno, es decir, el metal de transición que está justo por encima del W en la tabla periódica, y, por tanto, con propiedades químicas muy similares.

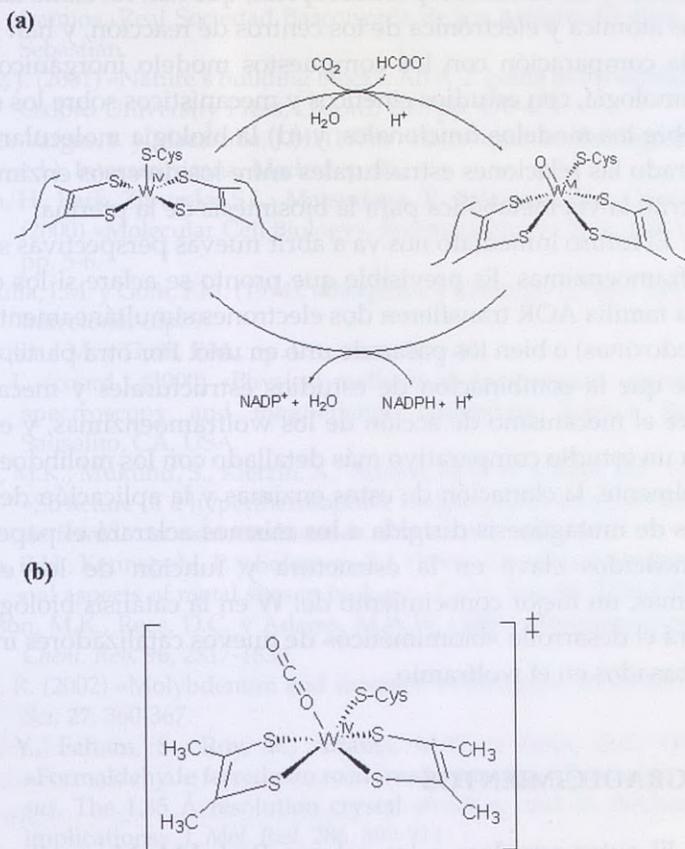


Fig. 8.

Entre los bioelementos es raro encontrar átomos de número atómico superior al del yodo ( $_{53}\text{I}$ ). El W es la excepción a esta regla. El W es el elemento más pesado que forma parte de las biomoléculas conocidas.

Desde el punto de vista metodológico, se debe reseñar que nuestro actual conocimiento de los wolframoenzimas es el resultado de un enfoque ampliamente interdisciplinar, en el que han intervenido (a) la química inorgánica y la química computacional, proporcionando modelos para los mecanismos de reacción, (b) la cristalografía de proteínas y las técnicas espectroscópicas, que han revelado las estructuras atómica y electrónica de los centros de reacción, y han permitido la comparación con los compuestos modelo inorgánicos, (c) la enzimología, con estudios cinéticos y mecanísticos sobre los enzimas y sobre los modelos funcionales, y (d) la biología molecular, que ha aclarado las relaciones estructurales entre los diversos enzimas, y ha descrito la vía metabólica para la biosíntesis de la pterina.

El futuro inmediato nos va a abrir nuevas perspectivas sobre los wolframoenzimas. Es previsible que pronto se aclare si los enzimas de la familia AOR transfieren dos electrones simultáneamente (a dos ferredoxinas) o bien los pasan de uno en uno. Por otra parte, es esperable que la combinación de estudios estructurales y mecanísticos aclare el mecanismo de acción de los wolframoenzimas, y esto permita un estudio comparativo más detallado con los molibdoenzimas. Finalmente, la clonación de estos enzimas y la aplicación de las técnicas de mutagénesis dirigida a los mismos aclarará el papel de los aminoácidos clave en la estructura y función de los enzimas. Además, un mejor conocimiento del W en la catálisis biológica permitirá el desarrollo «biomimético» de nuevos catalizadores inorgánicos basados en el wolframio.

## 7. AGRADECIMIENTOS

El autor agradece a los colegas Prof. J.M. Macarulla, Prof. P. Román, Dra. A.R. Viguera, Dra. M.I. Collado, Dña. M.J. Peña y Dña. A. Franco su ayuda en la preparación de esta Lección de Ingreso.

## REFERENCIAS

1. Unamuno, M. «Leer, leer, leer, vivir la vida ...» en: «Diez siglos de poesía castellana» (selección de V. Gaos). (1975) Alianza, Madrid, p. 337.
2. Quevedo, F. «Desde la Torre» en: «Antología poética» (prólogo y selección de J.L. Borges) (1982) Alianza, Madrid, p. 24.
3. Delhuyar, J.J. y Delhuyar, F. (1783) «Análisis químico del wolfram, y examen de un nuevo metal, que entra en su composición». Extractos de las Juntas Generales celebradas por la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País, Vitoria, pp. 46-88.
4. Román Polo, P. (2000) «Los hermanos Delhuyar, la Bascongada y el wolframio». Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País, San Sebastián.
5. Emsley, J. (2001) «Nature's building blocks. An A-Z guide to the elements». Oxford University Press, Oxford, UK, pp. 470-474.
6. Jiménez Vargas, J. y Macarulla, J.M. (1979) «Físico-química fisiológica» (5ª ed.). Interamericana, Madrid, p. 26.
7. Lodish, H., Berk, Zipursky, S.L., Matsudaira, P., Baltimore, D. y Darnell, J. (2000) «Molecular Cell Biology». Freeman, Nueva York, NY, USA, pp. 5-6.
8. Macarulla, J.M. y Goñi, F.M. (1994). «Bioquímica humana» (2ª ed.). Reverté, Barcelona, cap. 9.
9. Macarulla, J.M. y Goñi, F.M., op. Cit., op. Cit., caps. 10 y 12.
10. Que, L. (coord.) (2000) «Physical methods in bioinorganic chemistry: spectroscopy and magnetism». University Science Books, Sausalito, CA, USA.
11. Chan, M.K., Mukund, S., Kletzin, A., Adams, M.W.W. y Rees, D.C. (1995) «Structure of a hyperthermophilic tungstopterin enzyme, aldehyde ferredoxin oxidoreductase». *Science* **267**, 1463-1469.
12. Holm, R.H., Kennepohl, P. y Solomon, E.I. (1996) «Structural and functional aspects of metal sites in biology». *Chem. Rev.* **96**, 2239-2314.
13. Johnson, M.K., Rees, D.C. y Adams, M.W.W. (1996) «Tungstoenzymes». *Chem. Rev.* **96**, 2817-1839.
14. Hille, R. (2002) «Molybdenum and tungsten in biology». *Trends Biochem. Sci.* **27**, 360-367.
15. Hu, Y., Faham, S., Roy, R., Adams, M.W. y Rees, D.C. (1999). «Formaldehyde ferredoxin oxidoreductase from *Pyrococcus furiosus*. The 1,85 Å resolution crystal structure and its mechanistic implications». *J. Mol. Biol.* **286**, 899-914.
16. Rosner, B.M. y Schink, B. (1995) «Purification and characterization of acetylene hydratase of *Pelobacter acetylenicus*, a tungsten iron-sulfur protein». *J. Bacteriol.* **177**, 5767-5772.

17. Ueyama, N., Ueno, S., Nakamura, A., Wada, K., Matsubara, H., Kumagai, S., Sakakibara, S. y Tsukihara, T. (1992) «A synthetic analogue for the active site of plant-type ferredoxin: two different coordination isomers by a four-cys-containing [20]-peptide». *Biopolymers*, **32**, 1535-1544.
18. Webster, C.E. y Hall, M.B. (2001) «The theoretical transition state structure of a model complex bears a striking resemblance to the active site structure of DMSO reductase». *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 5820-5821.

# PALABRAS DE RECEPCIÓN Y PRESENTACIÓN

pronunciadas por

Pascual Román Polo

Amigo Presidente de la Comisión de Bizkaia, Amigas y Amigos de la RSBAP, señoras y señores:

Pocas satisfacciones hay más agradables para los Amigos de la Bascongada, que participar en la recepción de un nuevo Amigo en nuestra Sociedad. Es para mí un gran un honor recibir y presentar antes ustedes como Amigo de Número en nuestra Comisión de Bizkaia de la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País al profesor doctor Félix María Goñi Urcelay. El doctor Goñi atesora una gran categoría personal, profesional y científica, por quien tengo gran estima y que tuvo la deferencia de solicitar en nuestra Comisión de Bizkaia en septiembre de 2002, que hoy le presentara ante ustedes. Espero que seré capaz de ilustrar el talento, capacidad de trabajo, compromiso con el país y demás cualidades que adornan a nuestro nuevo Amigo.

El doctor Félix Goñi nació en San Sebastián el 12 de mayo de 1951, aunque su familia vivía cuando él vino al mundo entre Irún y San Sebastián, y él mismo se considera un verdadero irunés, tanto como un completo donostiarra. En Irún transcurrió su infancia y realizó sus estudios de enseñanza primaria y secundaria. Finalizó sus estudios de bachillerato en 1968 con premio extraordinario.

Mostró una decidida vocación por la Medicina, que le llevó a cursar los estudios universitarios de Medicina y Cirugía en la Universidad de Navarra, que finalizó con gran brillantez en el año 1974. Al año siguiente obtuvo el título de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Navarra con la máxima calificación de sobresaliente *cum laude* por su trabajo "Sobre un nuevo tipo de lípidos presentes en las membranas mitocondriales". Sin embargo, la verdadera vocación de Félix era la ciencia. En lugar de dedicarse a la práctica de la noble profesión médica, dirigió sus pasos hacia la Bioquímica en su doble aspecto docente e investigador.

Voy a referirles una anécdota de la vida académica y científica del Amigo Félix Goñi. En el curso primero de la carrera de Medicina (1968-1969) estudió la asignatura de Bioquímica con el profesor José María Macarulla. Tanto le impactó esta materia que, sin descuidar una formación básica en las disciplinas clínicas y cursando a la vez diversas asignaturas en la Facultad de Ciencias de la Universidad de Navarra, confesó a su padre que terminaría la carrera de médico, pero que ejercería como bioquímico, y en concreto, en el campo científico, investigando sobre el papel de los lípidos en la estructura y función de las membranas celulares. Al año siguiente su padre, preocupado por esta decisión, concertó una entrevista con el profesor Macarulla –con cena incluida– y pidió garantías de que "con la Bioquímica se podría ganar la vida dignamente". El profesor Macarulla le dio estas garantías, ya que Félix era un estudiante capaz, inteligente y bien dotado para la investigación. Cuando logró la plaza de profesor adjunto de Bioquímica, con otra cena, su padre agradeció al Profesor Macarulla su acertado diagnóstico.

Es bien conocida la fama y la pasión del Dr. Goñi por la pirotecnia. Aprendió el oficio de pirotécnico, en sus años adolescentes, de la mano de Vicente Caballer y sus hijos, en Godella (Valencia). Ofreció sus primeros espectáculos en Irún y pueblos del Bidasoa, y entre 1969 y 1975 dirigió la firma comercial "Pirotecnia Félix María Goñi". Apartado desde ese último año de la pirotecnia activa, nunca ha abandonado el complejo y fascinante mundo de los fuegos artificiales. Fue miembro del jurado del "Concurso de Fuegos Artificiales de San Sebastián", en 1972-1973, y fue el organi-

zador y miembro del jurado del "Concurso Villa de Bilbao", entre 1988 y 1998.

Además de su afición como practicante de la pirotecnia no es menor la labor divulgadora de esta técnica llena de color y riesgo. Aún se recuerda la conferencia que sobre los fuegos de artificio pronunció el profesor Félix Goñi en la Facultad de Ciencias de la UPV/EHU con ocasión de la festividad de nuestro santo patrono, San Alberto Magno. Aquella conferencia se transformó en una demostración teórico-práctica que nos sorprendió a todos los asistentes por su belleza y colorido. Tal vez, haya sido la conferencia que más grato recuerdo haya proporcionado a los profesores que peinamos alguna cana en la Facultad de Ciencias.

Su pasión por la pirotecnia estuvo a punto de costarle la vida. El pasaje de la vida de Félix que voy a relatarles lo retrata como una persona con grandes conocimientos científicos y dotes de convicción y organización. Con ocasión de celebrarse un certamen pirotécnico en Mónaco sufrió un grave accidente al explotar una carcasa y la metralla le alcanzó la pantorrilla de su pierna izquierda. En esta ocasión le salvaron sus profundos conocimientos médicos, porque pudo advertir a sus colaboradores que corrieron a auxiliarle que "le hiciesen un torniquete y no le cortasen la pierna, ya que él iba a desmayarse en un minuto y, como médico, creía que su pierna podía salvarse". Tal como había diagnosticado, se desmayó. En Mónaco recibió los primeros auxilios médicos, no le cortaron la pierna y lo enviaron a la Clínica Universitaria de Navarra, donde tras nueve meses de injertos y trasplantes de piel pudieron salvarle la pierna herida.

El Dr. Goñi muestra gran pasión por todas las manifestaciones de la cultura y la ciencia y, en particular, por el canto. Aprendió solfeo aprovechando que su hija Inés lo estaba estudiando, y ha estudiado técnica de canto y repertorio con las profesoras Victoria Zajchowsky (Canadá), Laura Nardi y María Folco (Bilbao). Se ha especializado en el repertorio barroco y en la canción romántica. Ha dado recitales en Victoria (Colombia Británica, Canadá), Bilbao (Sociedad Bilbaína) y Madrid (Fundación Juan March).

La lectura es otra de sus grandes aficiones, que acompaña con la escritura. Para Félix, los libros son sus grandes amigos. En este terreno

destaca tanto como crítico y lector empedernido cuanto como escritor de talento. En su currículum es preciso destacar su relato corto *La visita inesperada* que le valió el primer premio del Certamen Literario de Ciencia Ficción Alberto Magno en 1989, primer año que la Facultad de Ciencias de la UPV/EHU convocaba este Certamen. En la actualidad, este premio que, en 2002, se halla en su XIV edición goza de gran prestigio entre la comunidad científica nacional e internacional.

Su cultura bibliófila es tan excepcional que no deja de sorprender a todos los que le rodean y le tratan. Para presentar un libro del profesor Issa Katime —catedrático de Química Física de la UPV/EHU—, el capítulo de unidades precisaba una frase introductoria de algún científico célebre, y otro profesor sugirió la sentencia griega “El hombre es la medida de todas las cosas”, pero se requería el nombre del autor. Consultado el Dr. Goñi, le bastó estirar un brazo y abrir un libro de su biblioteca. La respuesta inmediata fue: “Anaxágoras; aquí esta la frase”.

No es fácil sintetizar brevemente la extraordinaria labor científica desarrollada por el doctor Félix Goñi en los campos de la Bioquímica y la Biofísica. En la actualidad, el Dr. Goñi es catedrático de Bioquímica en el Departamento de Bioquímica y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias de la UPV/EHU y Director de la Unidad de Biofísica, Centro mixto de la UPV/EHU y el Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC). Comenzó su andadura docente e investigadora en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Navarra en el curso 1974-1975 como ayudante de clases prácticas del profesor Esteban Santiago, que dirigió su Tesis Doctoral, en quien tuvo un maestro y modelo a seguir, y obtuvo el título de Doctor en Medicina y Cirugía por la Universidad de Navarra en 1975. Durante el curso académico 1975-1976 se trasladó a la Universidad Autónoma de Bilbao, donde fue contratado como profesor encargado de curso en el Departamento de Bioquímica.

Realizó una estancia posdoctoral como investigador asociado durante el periodo 1976-1978 en el Royal Free Hospital School of Medicine de la Universidad de Londres con el Prof. Denis Chapman, quien perfiló la vocación investigadora del Dr. Goñi. A este Centro

regresaría durante el curso 1980-1981 como investigador con una beca de la fundación Wellcome. Durante los cursos 1978-1979 y 1979-1980 fue profesor adjunto de Bioquímica en la Universidad del País Vasco, que continuaría durante el periodo 1981-1984. En este último año obtuvo la plaza de catedrático de Bioquímica de la Universidad de Santander. En esta universidad permaneció hasta el curso 1985-1986. En el curso siguiente, Félix Goñi se incorpora a la cátedra de Bioquímica en la Universidad del País Vasco donde ha permanecido hasta ahora.

Su capacidad de liderazgo y su habilidad como organizador llevaron al Dr. Goñi a desempeñar los cargos de Director del Departamento de Bioquímica y Biología Molecular en la Facultad de Ciencias en el periodo 1990-1995 y de Director de Política Científica del Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco en el periodo comprendido entre 1995 y 1999. Después de finalizar su mandato en el Gobierno Vasco, realizó una estancia como Profesor Investigador Visitante en el Departamento de Bioquímica y Microbiología de la Universidad Victoria de Canadá durante el curso 1999-2000. Desde esa fecha se dedicó, además de a la docencia y a la investigación, a conseguir el gran sueño de su vida: la Unidad de Biofísica. Este sueño se hizo realidad el día 22 de octubre de 2002, cuando fue inaugurada oficialmente por el señor Lehendakari del Gobierno Vasco y el Ministro de Ciencia y Tecnología del Gobierno de España. Sin lugar a dudas, aquel día fue uno de los más felices en la vida de Félix Goñi.

El Dr. Goñi es un autor de reconocido prestigio nacional e internacional. Bien sólo o en colaboración con otros investigadores ha publicado más de 225 trabajos originales en las más prestigiosas revistas internacionales de Bioquímica y Biofísica; su presencia es muy frecuente en los congresos nacionales e internacionales de su especialidad donde es invitado a participar para presentar los últimos avances de su grupo de investigación; ha dirigido o codirigido 18 tesis doctorales y 23 tesis de licenciatura. Además de sus artículos científicos ha escrito varios libros de texto o de divulgación científica con diversos colaboradores: "Química Orgánica", con el profesor Esteban Santiago, "Termodinámica" con el profesor Issa Katime,

“Biomoléculas” y “Bioquímica Humana” con el profesor José María Macarulla. Algunos de ellos han tenido un gran éxito editorial, alcanzando hasta 3 ediciones y 8 reimpressiones.

Todos estos logros no hubieran sido posibles sin el apoyo de los excelentes colaboradores que le han acompañado en esta tarea investigadora. Entre todos ellos, destacaré a dos catedráticos de Bioquímica: a su esposa, la profesora Alicia Alonso, Amiga Supernumeraria de esta Comisión de Bizkaia, y a su fiel amigo, el profesor José Luis Rodríguez Arrondo.

Es miembro de importantes sociedades científicas. Entre ellas destacaré: la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular (Junta rectora, 1984-1988), Sociedad de Biofísica de España (Presidente, 1994-1998), Biochemical Society (Reino Unido), Biophysical Society (EE UU) y American Society for Biochemistry and Molecular Biology (EE UU). Asimismo, pertenece al comité editorial de prestigiosas revistas de su especialidad. Entre otras citaré: *Chemistry and Physics of Lipids*, *Biochimica et Biophysica Acta* y *Journal of Liposome Research*. Trabaja regularmente como evaluador de importantes revistas científicas. Ha sido organizador de congresos nacionales e internacionales sobre Biomembranas en Bilbao, San Sebastián, Barcelona y Madrid.

Nuestro nuevo Amigo desarrolla su investigación preferentemente en el campo de las interacciones moleculares de compuestos anfipáticos; interacciones moleculares (lípidolípido y lípidoproteína) en biomembranas; interacción de proteínas solubles con membranas modelo y biomembranas: fosfolipasas, péptidos bioactivos y toxinas; inserción de proteínas en membranas; fusión de membranas. Surfactantes; química física y aplicaciones biológicas; interacciones membrana-surfactante. Espectroscopia infrarroja y sus aplicaciones biológicas a lípidos y proteínas y cuantificación de estructura y proteínas por espectroscopia IR.

Toda esta ingente actividad científica se ha visto recompensada con el Premio Euskadi de Investigación 2002. Este premio que fue creado por el Gobierno Vasco en 1996 para “estimular y promocionar los esfuerzos investigadores y equipos cualificados tanto en la Comunidad Autónoma Vasca como de fuera de ella, cuyo trabajo

haya ejercido una influencia positiva importante en Euskadi". Este premio recoge la idea de los fundadores de la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País y del Real Seminario Patriótico Bascongado de Bergara de edificar un centro de investigación para crear, absorber, incorporar, y transmitir la ciencia y la tecnología para el bien del país y sus gentes. El pasado 18 de diciembre de 2002, el señor Lehendakari del Gobierno Vasco entregaba este preciado premio al doctor Félix Goñi en el Palacio Miramar de San Sebastián. A esta convocatoria presentaron sus candidaturas 14 científicos de reconocido prestigio internacional. El galardón le fue concedido al Dr. Goñi por unanimidad del jurado, que reconoció su "liderazgo en la biofísica molecular y sus estudios sobre el mecanismo molecular de la fusión de membranas".

El Dr. Félix Goñi fue presentado a nuestra Sociedad por el Amigo de Número Francisco Albisu Carrera en 1988, quien le invitó a incorporarse a ella. El Dr. Goñi solicitó el ingreso en la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País aquel año y fue admitido como Socio Supernumerario al año siguiente (20-02-1989). Desde entonces ha colaborado con entusiasmo en cuantas ocasiones se le ha requerido para el mejor desarrollo de las actividades de nuestra Comisión.

El aislamiento del wolframio, el elemento químico de número atómico 74, representa la mayor gesta científica que realizó la RSBP allá por el año 1783, cuando los hermanos Juan José y Fausto Delhuyar Lubice presentaron ante las Juntas Generales de la Sociedad que se celebraron en Vitoria su trabajo de fama mundial titulado "Análisis químico del volfram, y examen de un nuevo metal, que entra en su composición". Doscientos veinte años más tarde, coincidiendo con la celebración del cincuenta aniversario del descubrimiento de la estructura en doble hélice del ADN por James Watson y Francis Crick, hace tan sólo unos días –el 14 de abril– científicos de seis países completaban el mapa del genoma humano; hoy un bioquímico y Amigo de la Bascongada nos presenta una lección de ingreso que ha versado sobre "Biología del wolframio", que puede considerarse como una verdadera lección magistral por su rigor científico y las perspectivas científicas que presenta este metal, tan querido por todos nosotros, en el campo de la biología.

Se conocen numerosos metales de transición que forman parte de las moléculas que entran en la composición de los seres vivos. Uno de ellos, y de los menos estudiados desde el punto de vista biológico, es el wolframio, sin lugar a dudas el elemento químico más vinculado a la historia científica de la Bascongada. Este metal ha sido incorporado a los centros activos de algunos enzimas a lo largo de la evolución debido a sus propiedades químicas específicas. Recientemente, se han dado a conocer las estructuras tridimensionales, a nivel atómico, de enzimas que contienen wolframio. Estos enzimas pertenecen al grupo de las oxidoreductasas, y permiten la "respiración" de algunas bacterias que viven en condiciones de muy alta temperatura, y pueden gracias a ellos obtener energía (ATP). Estos descubrimientos conectan la química del wolframio con la biología y la bioenergética. Aunque desde 1973 se sabe con certeza que el wolframio forma parte de enzimas en algunas arqueobacterias termófilas, no fue hasta 1983 que se identificó el primero. En los últimos veinte años se han descubierto hasta 14 enzimas que emplean este metal como parte esencial de su estructura. Es de esperar que, con la investigación que se viene realizando en este campo de la biología, este número irá en aumento en los próximos años.

Está fuera de dudas la importancia docente, investigadora y científica de las aportaciones del nuevo Amigo de Número para el País Vasco y, en particular, para el territorio de Bizkaia. Su quehacer profesional diario en la triple faceta docente, investigadora y divulgadora hacen del Dr. Goñi un Amigo de la Bascongada, por su dedicación al estudio y divulgación de la ciencia al más alto nivel, de tanta importancia para el país y sus gentes.

En nombre de la Comisión de Bizkaia de la Real Sociedad Bascongada de los Amigos del País, doy la más cordial bienvenida al Dr. Goñi. Es mi deber recordarte que de ahora en adelante deberás esforzarte en favor de los logros de nuestra Sociedad, con tus luces y trabajos en favor de la Bascongada, porque espero y deseo que seas un digno Socio Numerario de la Bascongada por tu dedicación, entusiasmo y colaboración en el "trabajo bien hecho". Estoy seguro que seguirás con este espíritu que te caracteriza en los próximos años.

Mi enhorabuena a Félix, que hago extensiva a Alicia, su esposa, a sus hijas Inés y Helena, y demás familiares. Muchas gracias por aceptar compartir contigo nuestros desvelos en favor del país y sus gentes.

A todos ustedes quisiera agradecerles su atención y compañía por compartir estos agradables momentos con nuestro nuevo Amigo. Muchas gracias.