

CĂTRE COMITETUL NOBEL
STOCKHOLM, SUECIA

CĂTRE COMUNITATEA
ACADEMICĂ, ȘTIINȚIFICĂ ȘI
MASS-MEDIA DIN ÎNTREAGA
LUME

CĂTRE TOATE
AUTORITĂȚILE
DIN ROMÂNIA

**PETIȚIE PENTRU RECUNOAȘTEREA LUI GHEORGHE BENGA CA UN
DESCOPERITOR AL PRIMEI PROTEINE CANAL PENTRU APĂ ÎN MEMBRANA
CELULEI ROȘII SANGUINE UMANE, CU CÂȚIVA ANI ÎNAINTEA LUI PETER AGRE
(PREMIUL NOBEL PENTRU CHIMIE ÎN 2003)**

În 1986 Benga și colaboratorii (1) au demonstrat clar pentru prima dată prezența și localizarea unei proteine canal pentru apă în membrana celulei roșii sanguine (CRS) umane printre peptidele ce migrează în regiunea de 35-35 kDa pe electroforetograma membranelor CRS, marcate cu ²⁰³Hg-p-chloromercuribenzen sulfonat (PCMBS) în condițiile inhibiției specifice ale difuziunii apei. Eu am sugerat că o proteină minoră componentă a membranei, ce leagă PCMBS este implicată în transportul apei și de asemenea am indicat modul în care proteina specifică ar putea fi caracterizată în continuare: prin purificare și reconstituire în liposomi. În același an experiențele de marcăre au fost confirmate și extinse (2) și în următorii 2-3 ani eu am descris noutatea descoperirii noastre în mai multe treceri în revistă (3-8).

În 1988 Agre și colaboratorii au purificat o nouă proteină din membrana CRS (9), denumită CHIP28 (channel forming integral membrane protein of 28 kDa (10). Totuși, pe lângă componenta de 28 kDa, proteina avea o componentă glicozilată de 35-60 kDa, adică cea pe care noi o detectasem ca locul de legare a PCMBS în condițiile de inhibiție a transportului apei prin membrana CRS (1, 2). Agre și colaboratorii au sugerat că CHIP28 ar putea juca un rol în legarea scheletului membranei de stratul dublu lipidic (9).

În 1990 Parker i-a sugerat pentru prima dată lui Agre într-o discuție personală că noua proteină ar putea fi canalul pentru apă, și în 1992 Agre și colaboratorii (11) bazați pe sugestia lui Windager de a folosi exprimarea în oocit ca un mecanism de a studia transportorii apei, au găsit că oocitele din *Xenopus laevis* microinjectate cu ARN-ul CHIP28 transcris în vitro, manifestau permeabilitate osmotică pentru apă crescută. Permeabilitatea pentru apă era inhibată de clorura mercurică, de aceea s-a sugerat că CHIP28 este o unitate funcțională a canalelor pentru apă din membrană. Prin reconstituire în liposomi s-a atătat că CHIP28 este însuși canalul pentru apă și nu e regulator al canalului apei. În 1993 CHIP28 a fost redenumit aquaporina 1.

Este evident și supradocumentat din faptele prezentate mai sus că prima proteină canal pentru apă (Aquaporina 1) a fost pentru prima dată descoperită în 1986 către Benga și colaboratorii (1, 2). Ei au descris una dintre componentele esențiale ale sale (greutatea moleculară de 35-60 kDa pentru componenta glicozilată) și modul de a distinge proteina canal de alte proteine (reconstituire în liposomi și măsurarea permeabilității pentru apă). Aquaporina 1 a fost purificată prima dată în 1988 și proprietatea ei de a transporta apa a fost identificată în 1992 de către Agre și colaboratorii (9, 11). Este de asemenea evident că ceea ce am identificat noi prin experiențe de marcăre este aceeași proteină pe care au purificat-o mai târziu Agre și colaboratorii, deoarece ei au menționat (11) "caracteristicile CHIP28 sunt în concordanță cu alte trăsături cunoscute ale canalelor pentru

apă, de exemplu proteinele CHIP28 în CRS intacte nu sunt afectate prin digestia proteolitică (9, 10), așa cum este și cazul canalelor pentru apă (12)”.

Cum Agre și colaboratorii au citat lucrarea noastră din 1983 (12) este foarte surprinzător că ei n-au citat niciodată lucrările noastre de referință (“landmark”) din 1986 (1, 2); în contrast ei s-au referit numai la lucrul altor autori americani care au identificat un “por” nespecific care ar permite permeația anionilor, cationilor, neelectroliților și apei (13). În contrast, noi am argumentat puternic tot timpul că în membrana CRS există într-adevăr canale pentru apă și am indicat modul în care proteinele canal pentru apă specifice pot fi caracterizate în continuare prin purificare și reconstituire în liposomi.

Eu am continuat să fiu foarte activ în domeniu, obținând purificarea aquaporinei 1 și elaborând un procedeu nou pentru cuantificarea sa prin densitometria gelului colorat cu argint (14). În ultima decadă noi am caracterizat permeabilitatea pentru apă a CRS de la peste 30 de specii (treceți în revistă 15, 16); noi am raportat o corelație pozitivă între valorile permeabilității pentru apă a CRS din sângele venos matern și CRS fetale izolate din sângele din cordonul ombilical recoltat la naștere. Aceasta indică o bază genetică pentru determinarea permeabilității pentru apă a CRS (17).

Lucrările noastre de referință din 1986 pot fi comparate cu prima detectare a unui copil “în utero” prin ultrasonografie, deoarece noi am descoperit una dintre componentele esențiale ale “copilului aquaporină” (o greutate moleculară de 35-60 kDa pentru componenta glicozilată); de asemenea noi am indicat modul de a recunoaște copilul după naștere (printre alți copii din grupul său!): plasând copii izolați într-un anumit mediu și așa cerându-le să efectueze aceeași probă (a se citi studii de reconstituire în liposomi și măsurarea permeabilității pentru apă), ca și atleții într-o probă de alergare. Acesta era singurul mod de a ști că într-adevăr copilul este cel mai rapid alergător și nu doar unul care ajută (prin diverse mijloace) pe un alt copil să fie cel mai rapid alergător. Un “nou copil” a fost observat în 1988 de către Agre și colaboratorii, totuși numai în 1992 copilul pe care noi l-am detectat prima dată a fost recunoscut ca având calitățile prezise.

Privind retrospectiv, pun întrebarea crucială, când a fost descoperită prima proteină canal pentru apă, aquaporina 1, un răspuns foarte clar și corect ar fi: prima proteină canal pentru apă numită azi aquaporina 1, a fost identificată sau “văzută” in situ în membrana CRS umane de către Benga și colaboratorii în 1986. A fost iarăși “văzută” când a fost purificată din întâmplare de către Agre și colaboratorii în 1988 și a fost iarăși identificată când funcția ei principală, proprietatea de a transporta apa, a fost găsită de către Agre și colaboratorii în 1992.

Dacă se face o comparație cu descoperirea Noii Lumi a Americii, primul om care a “văzut” o parte, într-adevăr foarte mică a Noului Pământ a fost Columb; mai târziu, alții, inclusiv Amerigo Vespucci (de la care derivă numele), “au văzut” mai bine o parte mai mare a noului Continent și în anii următori mulți exploratori au descoperit complexitatea Americilor!

Eu am prezentat istoria completă a descoperirii proteinelor canal pentru apă într-o trecere în revistă invitată (18) care a fost publicată cu o lună înainte de acordarea Premiului Nobel pentru Chimie lui Peter Agre pentru “descoperirea proteinelor canal pentru apă”. Se vede că a noastră contribuție seminală din 1986 a fost trecută cu vederea în mod grosolan de către Peter Agre și de asemenea de către Comitetul Nobel. Este un alt exemplu de greșeli în acordarea Premiului Nobel, când un om de știință care a contribuit cu adevărat cel dintâi la o descoperire este lăsat pe dinafară. Acesta este cazul meu în legătură cu prima descoperire a primei proteine canal pentru apă din membrana CRS umane.

Pentru oricare om de știință din lume dedicat adevărului și dreptății există o singură concluzie: descoperirea inițială a Dr. Benga trebuie să fie creditată în mod adecvat de către Comitetul Premiului Nobel.

Bibliografie

1. Benga Gh, Popescu O, Pop VI, Holmes RP, 1986c. *p*-(Chloromercuri)benzenesulfonate binding by membranes proteins and the inhibition of water transport in human erythrocytes. *Biochemistry* **25**: 1535-1538
2. Benga Gh, Popescu O, Borza Victoria, Pop VI, Mureșan A, Mocsy I, Brain A, Wrigglesworth JM, 1986b. Water permeability of human erythrocytes. Identification of membrane proteins involved in water transport. *Eur J Cell Biol* **41**: 252-262.
3. Benga Gh, 1988. Water transport in human red blood cells, *Prog in Biophys Mol Biol* **51**: 193-245.
4. Benga Gh, 1989a. Water exchange through the erythrocyte membrane. *Int Rev Cytol* **114**: 273-316.
5. Benga Gh, 1989b. Permeability through pores and holes. *Current Opinion in Cell Biol* **1**: 771-774.
6. Benga Gh, (Ed) 1989c. *Water transport in biological membranes*. CRC Press, Boca Raton.
7. Benga Gh, 1989d. Membrane proteins involved in the water permeability of human erythrocytes: binding of *p*-chloromercuribenzene sulfonate to membrane proteins correlated with nuclear magnetic resonance measurements. In Benga Gh, (Ed). *Water transport in biological membranes*. CRC Press, Boca Raton pp. 41-61.
8. Benga Gh, 1994. Water channels in membranes. *Cell Biol Int* **18**: 829-833.
9. Denker BM, Smith BL, Kuhaida FP, Agre P. Identification, purification and partial characterization of a novel Mv 28,000 integral membrane protein from erythrocytes and renal tubules. *J. Biol. Chem.* 1988, 263:15634-15642.
10. Smith BL, Agre P. Erythrocyte Mv 28,000 transmembrane protein exists. as a multisubunit oligomer similar to channel proteins. *J. Biol. Chem.* 1991, 266:6407-6415.
11. Preston G.M, Carroll TP, Guggino WB, Agre P. Appearance of water channels in *Xenopus* oocytes expressing red blood cell CHIP28 protein. *Science*. 1992, 256:385-387.
12. Benga Gh, Popescu O, Pop VI. 1983b. Water exchange through erythrocyte membranes. V. Incubation with papain prevents the *p*-chloromercuribenzene-sulfonate inhibition of water diffusion. *Cell Biol Int Rep*, **7**: 807-818.
13. Solomon AK, Chasan B, Dix JA, Lukacovic MF, Toon MR, Verkman AS, 1983. The aqueous pore in the red cell membrane: band 3 as a channel for anions, cations, nonelectrolytes and water. In: *Biomembranes and cell function*. FA Kumerow, Gh Benga, RP Holmes, Eds., *Ann New York Acad Sci*, **414**: 97-124.
14. Benga Gh, Banner M, Wrigglesworth JM, 1996. Quantitation of the water channel protein aquaporin (CHIP28) from red blood cell membranes by densitometry of silver stained polyacrylamide gels. *Electrophoresis* **17**: 715-719.
15. Benga Gh, Borza T. 1995. Diffusional water permeability of mammalian red blood cells. *Comp. Biochem. Physiol.*, 112B, 653-659.
16. Benga Gh, 2001. Diffusional water permeability of red blood cells from various vertebrate species. *Bull Mol Med* **7-8**: 27-42.
17. Benga Gh, Frențescu L, Matei H, Țigan Ș, 2001. Comparative nuclear magnetic resonance studies of water permeability of red blood cells from maternal venous and newborn umbilical cord blood. *Clin Chem Lab Med* **39**: 606-611.
18. Benga Gh. Birth of water channel proteins-the aquaporins. *Cell Biol. Int.* 2003, 27:701-709.

Prezentată la cel de al 8-lea Congres Mondial privind Progresele în Oncologie și la cel de Al 6-lea Simpozion Internațional de Medicină Moleculară (Hersonissos, Creta, Greece, October 16-18, 2003).

18 octombrie 2003, Hersonissos, Creta, Grecia

Gheorghe Benga, medic și chimist, dr. în medicină (specialitatea chimie biologică)

Profesor, Șef al Catedrei de Biologie Celulară și Moleculară

Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" din Cluj-Napoca

St. Pasteur nr. 6, 430349 Cluj-Napoca, România

Tel: 40-264-594373

Fax: 40-264-596889

E-mail: ggbenga@gmail.com

Membru al Academiei Române, Membru al Academiei Române de Științe Medicale,

Președinte al Filialei Cluj a Societății Române de Biologie Celulară, Vice-președinte al Societății

Române de Genetică, Vice-președinte al Asociației Româno-Americane de Medicină de Laborator,

Life Member, American Association for the Promotion of Science

Prin lege sunt obligat să scriu eu însumi petiția. Orice suport de la oamenii de știință din întreaga lume va fi recunoscut cu grațitudine.

Pentru suportul PETITIEI se poate semna pe acest site, ca persoane fizice, iar pentru recunoașterea publică/ colectiva se va trimite mesaj (semnat de reprezentantul instituției sau colectivului) prin posta, E-mail sau fax la adresele de mai sus.

P.S. După ce PETIȚIA și celelalte informații relevante au fost plasate pe site-ul Asociației Ad Astra (www.ad-astra.ro), în octombrie – decembrie 2003, câteva sute de oameni de știință au semnat în sprijinul PETIȚIEI, aprobând acțiunea mea, unii adăugând comentarii ce subliniază prioritatea mea și a grupului condus de mine (grupul Benga) în descoperirea primei proteine canal pentru apă. Printre semnatori mentionez majoritatea membrilor Academiei Române, între care: Acad. Ionel Haiduc (Președinte al Filialei Cluj-Napoca a Academiei Române, devenit ulterior Președinte al Academiei Române), toți membrii Secției de Științe Chimice, toți membrii Secției de Știință și Tehnologia Informației (inclusiv Președintele Secției, Acad. Mihai Drăgănescu, fost Președinte al Academiei Române), toți membrii titulari ai Secției de Științe Medicale, inclusiv Președintele Secției, Acad. Nicolae Cajal (pe atunci era și Președinte al Academiei de Științe Medicale din România), Acad. Victor Voicu, (pe atunci Secretar general al Academiei Române), distinșii fiziologi Acad. Ion Baciș și Acad. Ion Hăulică, Acad. Laurențiu M. Popescu, pe atunci Prim-Vicepreședinte al Academiei de Științe Medicale, devenit ulterior Președinte al Academiei de Științe Medicale), Prof. univ. General (r) Vasile Căndea (Președintele Academiei Oamenilor de Știință din România), cei mai de seamă biochimiști din România, inclusiv Acad. Mihai Șerban (Președintele Comisiei de Biochimie a Academiei Române), Dr. Ștefana Petrescu (Director al Institutului de Biochimie al Academiei Române și președinte al Societății Române de Biochimie), chimiști, fizicieni, matematicieni, informaticieni și alți specialiști ai țării, personalitățile de frunte ale Academiei de Științe Medicale și alți distinși oameni de știință.

Din străinătate am primit sprijinul și recunoașterea Profesorului George Emil Palade (Laureat Nobel pentru Fiziologie sau Medicină în 1974), a unora dintre cei mai mari specialiști din lume în domeniul glicoproteinelor (Prof. Naoyuki Taniguchi din Japonia, Prof. Jean Montreuil din Franța), al transportului prin membrane (Prof. Ramadan Sha'afi din SUA, Prof. Richard Naftalin din Anglia, Prof. Philip Kuchel din Australia), precum și din partea coautorilor străini la cele două

lucrări de referință din 1986 publicate în: Biochemistry (coautor Prof. Ross Holmes din SUA) și Eur. J. Cell Biology (coautori Prof. John Wrigglesworth și Dr. Anthony Brain din Anglia). Comentariile lor și ale multor alți savanți de renume mondială se pot găsi pe acest site.

De asemenea există câteva zeci de recunoașteri colective, între care cele ale Academiei Oamenilor de Știință din România, ale Academiei de Științe Medicale, Consiliului Național pentru Cercetare Științifică în Învățământul Superior, ale unor Filiale ale Academiei Române, ale Societății Române de Biologie Celulară, ale unor universități, facultăți, departamente, institute de cercetare, asociații din țară și din străinătate.

Prioritatea grupului Benga în descoperirea primei proteine canal pentru apă este recunoscută în mai multe comentarii privind Premiul Nobel pentru Chimie pe 2003, precum și în articole științifice menționate pe acest site.