

BROKOLİYİ YENİDEN KEŞFEDEN BİLİM İNSANI**PAUL TALALAY**

Paul Talalay (1923–2019)

Merve Çaltır ve Dr. Adil Denizli

Hacettepe Üniversitesi, Kimya Bölümü, Beytepe, Ankara

Paul Talalay, Joseph ve Sophie Talalay'ın dördüncü çocuğuydu. Babası ve ağabeyleri başarılı birer mucit ve mühendislerdi, köpük kauçuğu yapmak için bazıları hala kullanımda olan prosedürler de dahil olmak üzere çok sayıda patent aldılar. O zamanlar on yaşında olan torunu tarafından Paul'un da yardımıyla yazılan dokunaklı biyografiye göre, 1917 Rus devriminden sonra aile batıya, 1923'te Paul'un doğduğu Berlin'e göç etti. Antisemitizmin büyümesinden kaynaklanan sorunlardan kaçınmak için evde eğitim gördü ve işlerinden biri akşam yemeği bulaşıklarını yıkamaktı. Hatırlanacağı gibi, 1933'te onuncu yaş gününde, Hitler'in Nazi Almanyası'nın lideri olmasından sadece aylar sonra; Joseph, Paul'a bir daha bu bulaşıkları göremeyeceğini söyledi. O gece, Joseph tarafından birkaç yıl önce önceden alınmış bir Haiti pasaportu sayesinde, aile Almanya'dan kaçtı ve sonunda 1940'ta Amerika Birleşik Devletleri'ne gelmeden önce İngiltere'ye yerleşti. 1952'de, bakteri eğitimi almak için bir yılına İngiltere'ye döndü. E.G. Gale ile metabolizma üzerine çalıştığı Cambridge Üniversitesi'nde Pamela Samuels ile tanıştı ve iki hafta sonra evlenmeye karar verdiler.

Enzimler ve Steroidler

1940'lardan 1960'lara kadar olan dönem, enzimoloji alanında verimli bir dönemdi. Bu çağda canlı içi kimyasal reaksiyonu saflaştırılmış bir proteine bağlamak giderek daha yaygın hale geldi. Enzimlerin kinetik ve kimyasal mekanizmaları yoğun bir şekilde araştırılıyordu. Spektroskopik değişiklikleri içeren akıllı enzimatik aktivite analizlerinin geliştirilmesi, bu süre zarfında ilerlemenin kilit bir bileşenydi. Paul, 1944'te MIT'de biyofizik alanında lisans derecesini aldıktan sonra, Chicago Üniversitesi'nde birinci sınıf tıp öğrencisi olarak biyomedikal araştırma dünyasına girdi. Efsanevi biyoorganik kimyager Frank Westheimer o sırada üniversitedeydi. Kolesterol biyosentezi alanındaki çalışmalarıyla tanınacak olan gelecekteki Nobel Ödülü sahibi Konrad Bloch da üç yıl sonra aralarına katılacaktı. Paul'un en önemli ve kalıcı akıl hocası, cerrah Charles Huggins'di. 1966'da Nobel Tıp Ödülü'nü alacak olan

Huggins, on yıl önce testosteron ve ilgili androjenlerin prostat kanserinin büyümesinde önemli belirleyiciler olduğunu göstermişti. Bu bulgu, Huggins'in steroid hormon biyosentezinde yer alan enzimlere ilgi duymasına neden oldu. Paul'un enzimolojideki ilk çatlacağı, serum fosfatazlarının aktivitesini izlemek için kolay bir kinetik deney geliştirmekti. Prostat kanserinin kemiği sık bir metastaz bölgesi olarak istila edebileceği uzun zamandır biliniyordu. Prostat kanseri metastazının bir biyobelirtecinin, kemik parçalanması üzerine salınan kandaki fosfataz aktivitesi seviyeleri olduğu tahmin edildi. Paul, enzimatik hidroliz üzerine belirgin bir renk değişikliğine yol açan yeni bir fosfataz substratı (pH indikatör boyası fenoltaleinin bir fosfat monoesteri) sentezledi. Huggins ve Paul tarafından ortaklaşa yazılan ve 1945 yılında Journal of Biological Chemistry'de yayınlanan ortaya çıkan kolorimetrik test, enzimatik aktiviteyi ölçmek için basit bir yöntemin dönüştürücü gücünün erken bir örneğiydi. Babasının azalan sağlığı, Paul'ü 1946'da Yale'de tıp fakültesini tamamladığı New Haven'a getirdi. Daha sonra Massachusetts General Hospital'da cerrahi asistanlığı yaptı ve 1950'de Chicago Üniversitesi'ne ve Ben May Kanseri Merkezi'nde öğretim üyesi olarak çalışan Charles Huggins'in danışmanlığına döndü. Akademik kariyerinin bu aşamasında Paul, steroid hormon dönüşümlerinde yer alan enzimleri incelemeye odaklandı. Steroidlerdeki 3- veya 17 hidroksi gruplarını karşılık gelen ketonlara tersine çevirebilen NAD (nikotinamid adenin dinükleotid) bağımlı dehidrojenaz enzimlerini araştırdı. O zamanlar, memeli sistemlerinde steroid dönüştürücü enzimlerin neredeyse inatçı zara bağlı karışımlarıyla çalışmak, biyokimyasal karakterizasyonun önünde büyük bir engeldi. Bu nedenle Paul, yüksek aktivite oranları ve saflaştırma ve analize daha yatkın olmaları nedeniyle memeli dokularından ziyade bakterilerden türetilen enzimlere odaklanmayı seçti. Kısa sürede, yeni laboratuvarı NAD / NADH oranlarına bağlı güçlü steroid hormonu oksidoredüktaz aktivitesi gösterdi. O ve meslektaşları, bu enzimlerin substrat seçiciliklerini, katalitik verimliliklerini, denge sabitlerini ve hidrit transfer mekanizmalarını belirledi. Paul, meslektaşı Guy Williams-Ashman ile işbirliği içinde, östradiolün estrona dönüşümünde NAD / NADH oranlarının enzim aracılı



değişiklikleriyle hedef dokularda östradiolün hücrel olarak algılanmasının başlanabileceği fikrini öne sürdü. Bu tartışmalı öneri, Paul'un Ben May Kanseri Merkezi meslektaşları Ellwood Jensen tarafından birkaç yıl sonra östrojen hormonu reseptörlerinin keşfinden önce geldi. Östradiol tarafından redoks algılama kavramının östrojen eyleminin reseptör

modeli tarafından değiştirildiğini söylemek doğru olsa da, ilgili önerilen modellerin NAD / NADH durumu, epigenetik ve gen ekspresyonunu birbirine bağlamada son on yılda yeniden ortaya çıkması dikkate değerdir. Paul'un steroid enzimler alanına ve daha geniş enzimoloji alanına en uzun süreli katkısı, 1955 yılında Pseudomonas testosteroni bakterisinde bir çift bağlı

izomeraz keşfinden kaynaklanmıştır. Bu Pseudomonas izolatını düzenli olarak erkek köpek idrarına maruz kalan topraktan seçtiğini, bu ortamdaki bakterilerin testosteron katabolize eden enzimler açısından zengin olacağına inandığını anlattı. Nihayetinde ketosteroid izomeraz veya KSI olarak bilinen çift bağ izomerleştirilen enzim, delta-5- 3-ke-ton



steroidlerini yüksek katalitik verimlilikle delta-4-3-keton steroidlerine dönüştürür. Delta-5 steroid izomeraz aktivitesinin, 3-hidroksi grubunu ketona oksitleyen aynı polipeptitlerin aracılık ettiği memeli sistemlerinden farklı olarak (KSI keşfedildikten yıllar sonra karakterize edilir), Pseudomonas, redoks ve izomeraz kimyasal reaksiyonları için ayrı enzimlere

sahiptir. KSI'nin keşfi sırasında, keto-olfeinlerin beta, gama-alfa, beta-karbon pozisyonlarından asit ve bazikatalize edilmiş konjugasyonu organik kimyada iyice yerleşmişti. Bu enzimatik olmayan reaksiyonların kimyasal mekanizmasına dayanarak, yaygın olarak ağır izotop sudan, D₂O'dan döteryumun, gama metilen karbon pozisyonunda organik bileşiğe çift bağ izomerizasyonu üzerine dâhil edildiği gözlemlenir. Zaman spektrometrisinde bu tür döteryum katılımının, gama-karbona asit/baz aracılı proton transferi yoluyla çözücü değişiminden kaynaklandığı çıkarılmıştır. Paul'un KSI'nin ilk karakterizasyonunda, enzimatik aktivitenin ilgili enzimatik olmayan izomerizasyondan farklı olduğunu gösterdi, çünkü steroid substratın hidrojen atomları tamponlu sulu solüsyonla önemli ölçüde değiştirilmedi. Bu bulgu, KSI'deki varsayılan bir aktif bölge bazının, hidrojeni 4-pozisyonunda (alfa-karbon) korumak ve steroidin 6-pozisyonuna (gama-karbon) hareket ettirmek için sudan yeterince korunduğunu ima etti. KSI'nin keşfinin ardından Paul'un ekibi, enzimi kristalizasyon yoluyla saflaştırmayı başardı ve bu da ayrıntılı biyokimyasal karakterizasyonunu kolaylaştıran son derece homojen malzemeye yol açtı. Moleküler klonlamanın ve rutin DNA dizilemesinin bulunmasından yıllar önce, 1971'de Paul'un grubu, Edman-degradasyon yöntemleri dahil olmak üzere klasik yollarla KSI'nin 125 amino asit dizisinin tamamını belirleyebildi. Ek olarak, KSI'nin homodimerik bir protein olduğu gösterilmiştir. KSI'nin yüksek çözünürlüklü yapısının hem NMR (nükleer manyetik rezonans) hem de X ışını kırınım yöntemleriyle belirlenmesi kristalleşmesinden neredeyse kırk yıl sonra olacaktır. Ancak 1963'te Paul'un laboratuvarı, KSI katalizine benzeri görülmemiş mekanik anlayışlar sağlayan bir dönüm noktası deneyi gerçekleştirdi. Bu deney, bir dizi steroid analogunun KSI'ya bağlanmasının UV bazlı spektroskopik bir analizini içeriyordu. Bu çalışma sırasında, KSI'nin bir kofaktörden yoksun olduğu ve triptofan kalıntılarında da yoksun olduğu belirlendi. KSI'nin ayrıca spektroskopik olarak izlenebilen yaklaşık

on tirozin kalıntısına sahip olduğu biliniyordu. Fenolik steroidler estradiol ve at östrojen dihidroequilenin (DHE), 5-10 µM aralığında Ki değerleri ile KSI'nin nispeten güçlü rekabetçi inhibitörleri olarak biliniyordu. Bu tür Ki değerleri, düzlemsel doğaları ve enolik içerikleri göz önüne alındığında, geçiş durumu analoglarına benzer olabileceklerini düşündüren, 320 µM'lik substrat androst-5-ene-3,17-dione Km'den önemli ölçüde daha düşüktür. Östradiol veya DHE'yi KSI ile titre ettikten sonra Paul, absorbanlarda dramatik bir batokromik kayma olduğunu gördü. Kayma, KSI yokluğunda sodyum hidroksitinin estradiol veya DHE'ye eklenmesini takiben benzerdi. Bu nedenle Paul, östradiol veya DHE'nin KSI ile karıştırılmış spektroskopik davranışını, enzim aktif bölgesine komplekslenmiş bir fenolat oluşturarak protosuzlaşan bir fenolik parçaya bağladı. Katalitik bir ara ürünün böyle bir analogunu görselleştirmek, enzim mekanizmaları alanında bilimsel bir atılımdı. Paul, bu çalışmayı 1962'de, Farmakoloji Bölümü Direktörü olarak kabul edildiği John Hopkins Üniversitesi Tıp Fakültesi'ni ziyareti sırasında sundu. Arama komitesi başkanı Albert Lehninger, görünüşe göre deneyden çok etkilenmişti ve moleküler içgörüyü, işi Paul'e teklif etmek için çabucak harekete geçti. Paul, 1990'lara kadar uzanan sonraki yıllarda, Johns Hopkins öğretim üyeleri Cecil Robinson ve Al Mildvan ile verimli işbirlikleri yoluyla KSI'nin ayrıntılı enzim mekanizmasını sorgulamaya devam etti. Robinson ile birlikte, KSI aktif bölgesini kovalent olarak etiketleyen bir beta, gama-asetilenik keton içeren bir sekosteroid formunda bir KSI'nin mekanizmaya dayalı inaktivatörünü araştırdı. Paul, Mildvan ile, karbonil oksijenin substratını protonlayan aktif bölge bazını (aspartat-38) ve genel asidi (tirozin-14) tanımlayan bölgeye yönelik mutagenез gerçekleştirdi. Bu zarif çalışmalar, KSI katalizinin doğasının inanılmaz derecede derinlemesine anlaşılmasını sağladı ve Paul'ü çağın önde gelen enzimologlarından biri olarak tanımladı.

Farmakoloji

Paul, 1963'te Johns Hopkins'te Farmakoloji Direktörü olarak işe alındı. Meslektaşları tarafından şiddetle tavsiye edilmesine ve bu alandaki geçmişe sahip olmamasına rağmen bu görevi aldı. Bilimsel olarak küçük, inışli çıkışlı olan ama etkileyici bir geçmiş olan bir bölümü miras aldı. Johns Hopkins'teki Farmakoloji ve Deneysel Terapötikler Bölümü, 1893'te, Amerika Birleşik Devletleri'nde modern farmakolojinin babası olarak kabul edilen John Jacob Abel tarafından başlatıldı. Başarıları arasında Abel, epinefrin ve insülini izole edip saflaştırdı. Abel'in yerine E. K. Marshall, ardından da Gilbert Mudge geldi. Paul sadece dördüncü Farmakoloji Direktörü olacaktı. Paul kendi kendine yeten bir farmakologdu. Departmanı yönetmek için Johns Hopkins'e geldiğinde, geçmişinde Yale'deki tıp eğitiminin bir parçası olarak farmakoloji, Huggins ile enzimoloji alanında sıkı eğitim ve bir cerrah olarak klinik uzmanlığı vardı. Warner-

Lambert Pharmaceutical Company'de araştırma ve geliştirmeden sorumlu başkan yardımcısı Ward Haas'ın 1970 yılında Paul'un meslektaşlarından birine yazdığı bir mektupta belirttiği gibi, "O tam olarak klasik bir farmakolog değil...." Yine de, Paul 1975'te istifa ettiğinde, tıp öğrencisi farmakoloji kursunda devrim yarattı, Johns Hopkins'teki farmakoloji alanındaki ilk eğitim programı için NIH finansmanı kurdu ve elde etti ve beklenmedik ama parlak bir genç yardımcı doçent kadrosunu atadı. 1963'te Hopkins'e geliştinden sonraki aylar içinde, talidomid trajedisinden kısa bir süre sonra ve bu ülkedeki uyuşturucuların geliştirilmesi ve düzenlenmesi ciddi bir inceleme altında olduğunda (yarım düzine kongre komitesi dahil), üniversite başkanı ve mütevellileri kabul etti. Johns Hopkins'in, toplumumuzda güvenli ve etkili ilaçları erişilebilir kılma karmaşık sorununu ele almak için seçkin bir konferansa ev sahipliği yapması gerektiğini düşünüldü. Paul'dan bu yüksek profilli etkinliği organize etmesi istendi ve bu, geniş bir farmakoloji yelpazesinde kendi

kendine eğitiminin başlangıcıydı. Konferans için birkaç sayfalık önerisi, uzmanlıkları beklenen akademik ve farmasötik yönleri içeren, ancak aynı zamanda terapötik, ekonomi ve reklamcılık tarihi için öneriler içeren konular ustaca bir hâkimiyet ile ortaya koydu. Konferansın sonuçları daha sonra çok beğenilen bir makale koleksiyonu olan *Drugs in our Society*'de 1964'te yayınlandı. Paul'un öğretmenin önemine olan güçlü ve kalıcı inancı, farmakolojinin ayrıntılarıyla ilgili kişisel eğitiminin temeli olan tıp öğrencisi farmakoloji kursunda da yansıtıldı. Sıfırdan yeni tasarlanmış bir müfredatla başladı ve dersin çoğunu kendisi yaptı. İstisnasız her öğretim çalışmasına kendisi katıldı ve fakültesinin tüm derslere katılmasını istedi. Öğrencileri bu aktivitenin ortakları olarak gördü ve farmakoloji kursu, klinik öncesi müfredatta en popüler olanı oldu ve yıllarca kaldı. Paul, birincil sorumluluğu bıraktıktan sonra on yıllar boyunca, tıp öğrencisi öğretimine dâhil oldu ve destek verdi. Yüksek kaliteli bir tıbbi farmakoloji öğretim programı kuran ve büyüyen genç

O
tam olarak
klasik
bir
farmakolog
değil...



bir fakülte ile Paul, dikkatini farmakologların eğitimine çevirdi. İlk çabalar, 1963'ten itibaren bir NIH eğitim bursu ile desteklenen doktora sonrası bursiyerlere odaklandı. 1968'de bölümün doktora derecesi verme yetkisini aldı. O zaman için kesinlikle alışılmadık olan ilk altı yüksek lisans öğrencisinden dördü kadındı. Paul, kurduğu bölümün 1971 tarihli tanımında, farmakoloji bilimini derin bir şekilde takdir ettiğini söyleyerek, "Modern farmakolojinin kavramsal çerçevesi, olağanüstü geniş bir problem yelpazesini ve bunların çözümüne eşit ölçüde çeşitlendirilmiş yaklaşımları kapsar. . Yine de farmakoloji, bağımsız bir disiplin olarak varlığını, temelde kimyasal

ajanların insan üzerindeki etkilerinin daha iyi anlaşılması ihtiyacından doğmuş olduğu gerçeğine borçludur, bu tür etkileşimlerin terapötiklerle, toksikolojiyle veya bunlarla ilgili olup olmadığına bakılmaksızın bağımlılık yapıcı ve psychedelic ajanların üretken kullanımından kaynaklanan başlıca sosyal sorunlar." Bu görüş, 1976 başkanının başka bir farmakoloji bölümünün davetli incelemesinin özetinde genişletildi: "... akademik farmakoloji, moleküler süreçlerden başucu sorunlarına kadar uzanan bilimsel bir süreçtir. Klinik ve fizyolojik farmakolojiye karşı moleküler ve hücresele farmakolojiye basit bir bölünme

ne arzu edilir ne de uzun vadede başarılı olabilir. Temel bilimsel çabanın daha geniş bir tıbbi kumaşa dokunması önemlidir. Farmakoloji, hem en büyük zorluklarını hem de fırsatlarını ortaya koyan bu özel karışımı elde etmektir." Paul, 1963-1975 arasındaki hizmet yıllarında, dikkate değer ve vizyon sahibi bir lider olduğunu kanıtladı. Bu başarı için kritik olan, onun yönetiminde gerçekleşen fakülte atamalarıydı. Bu pırıl pırıl ama alışılmışın dışında fakülte üyeleri arasında Cecil Robinson, Donald Coffey, Solomon Snyder, Catherine Fenselau ve Pedro Cuatrecasas vardı. Paul, alışılmadık geçmişlere sahip yetenekli insanları tanıma ve yetiştirme



konusunda olağanüstü bir yeteneğe sahipti. Johns Hopkins, karşılaştığı zorluklar arasında geleneksel olarak büyük finansal başlangıç paketleri hazırlarken muhafazakâr davrandı. Paul, öğretim üyelerini işe almak için kaynakların özellikle yetersiz olduğunu, ancak her randevudan sonra işleri bir şekilde başarmak için fonları geri dönüştüreceğini belirtti. O, genç meslektaşları için oldukça uygulamalı bir akıl hocasıydı, öyle ki bir pH ölçer bozulursa, Paul onu onaracaktı. Cecil Robinson, Hopkins'e katılmadan önce New Jersey'deki Schering-Plough'da tıbbi kimyacıydı. Doktora derecesine sahip organik kimyager kartvizitini taşıyordu. Organik kimya, 1960'ların başlarında farmakoloji bölümlerinde ana akım bir alan olarak görülmüyordu, ancak Paul'un bakış açısına göre, Robinson'un kimyasal titizliği ve yaratıcılığı, bölüm ve tıp fakültesi topluluğu için önemliydi. Robinson, steroidlerin ve steroidal enzimlerin biyoorganik kimyasında lider olmaya devam etti. Aromataz ve aromataz inhibitörleri konusundaki öncü çalışmaları, günümüzün yaygın olarak reçete edilen ve hayat kurtaran anti-meme kanseri ajanlarının temelini attı. Donald Coffey, doktorasını tamamladıktan sonra Hopkins Fizyolojik Kimya Bölümündeki Leslie Hellerman ile birlikte Farmakoloji Bölümü'ne katıldı. Geçmiş flavine bağlı enzim mekanizmalarında olmasına rağmen, Coffey kanseri anlama ve tedavi etme konusunda tutkuluydu. Hopkins'te kanser biyolojisi çalışmalarını teşvik etmede ilham verici bir figür haline geldi ve belki de kurumun bir onkoloji merkezi olarak yükselişinden en çok sorumlu kişi oldu. Hücrenin çekirdek matrisi alanındaki öncü çalışmaları, kromatin yapısını anlamamızda derin bir etkiye sahipti. Coffey buna karşılık, akıl hocası Hopkins'in önde gelen isimleri Bert Vogelstein, Drew

Pardoll, Bill Nelson, Alan Partin ve kanser araştırmalarındaki diğer birçok mevcut liderlere yardım etti. Coffey'nin kanser için neyse, Solomon Snyder de sinirbilim alanında odur. Snyder, Georgetown ve San Francisco'da tıp eğitimini tamamladı ve NIH'de Julius Axelrod ile araştırma görevlisiydi. Daha sonra psikiyatri ihtisası için Johns Hopkins'e taşındı, ancak bir nörofarmakoloji araştırma programı geliştirmekle ilgilendi. Randevunun alışılmadık doğasına rağmen Paul, Snyder'in müthiş



potansiyelini fark etti ve onu aynı anda psikiyatri eğitimini tamamlarken Farmakoloji Bölümü'nde öğretim üyesi olmaya davet etti. Kısaca Snyder, opiat reseptörünün varlığının yanı sıra birkaç nörotransmitteri keşfetti ve nöronal sinyalleme anlayışımıza büyük katkılar sağlamaya devam etti. Ayrıca, şu anda dünyanın en iyi merkezlerinden biri olan Johns Hopkins'te Nörobilim Bölümünün kurucu başkanı oldu. Paul, 1960'larda kütle spektrometrisinin biyomedikal araştırmada devrim yaratabileceğini takdir edecek alışılmadık bir sezgiye sahipti. O

zamanlar, kütle spektrometresi kimya departmanlarıyla sınırlı bir tekniktir ve öncelikle sert gaz iyonu fiziksel kimyagerlerin alanıydı Paul, kütle spektrometresini biyolojik araştırmalara uygulamakla ilgilenen uygun bir genç bilim adamı işe almaya çalıştı. Doktora derecesi almış Catherine Fenselau'yu tanıdı. Stanford'daki Carl Djerassi laboratuvarından aldı ve kampüste henüz bir kütle spektrometresi olmamasına rağmen onu Hopkins Farmakoloji'ye gelmeye ikna etti. Paul ve Fenselau, bir kütle spektrometresi satın almak için para toplamak için çeşitli hayırsever kaynaklara, devlet kurumlarına ve şirketlere ulaştı. Bu azim meyvesini verdi. O zamanlar Fenselau, Hopkins'teki temel bilimlerdeki birkaç kadın öğretim üyesinden biriydi ve tam profesör olan iki isimden birisiydi. (diğeri 1917'de Florence Sabin idi). Fenselau, Hopkins ve daha sonra Maryland Üniversitesi'nde, başlıca anti-kanser ilacı olan siklofosfamidin kimyasal mekanizmasının tanımlanması da dâhil olmak üzere kütle spektrometrisinin teknolojisine ve uygulamasına büyük katkılarda bulunmuştur. Dahası, dünya çapında, kütle spektrometresi, Paul'un içgüdülerini doğrulayan, modern biyomedikal araştırmaların en önemli yöntemlerinden biri haline geldi. Pedro Cuatrecasas, Hopkins'teki Tıp ve Farmakoloji Departmanları arasında paylaşılan bir bölüm olan klinik farmakolojiye liderlik etmesi için işe alındı. Cuatrecasas, Johns Hopkins'te bir klinik tıp evi memuru olmanın yanı sıra, laboratuvarında afinite kromatografisi geliştirmesine yardım ettiği protein biyokimyacı Chris Anfinsen ile araştırma görevlisi olmanın alışılmadık geçmişine sahipti. Cuatrecasas nispeten kısa bir süre Hopkins'teydi, ancak oradayken, insülin reseptörünün

izolasyonu ve tanımlanması konusunda öncü çalışmalar yaptı. Ayrıca tıp öğrencisi ve geleceğin Nobel ödüllü sahibi Peter Agre'ına danışmanlık yaptı. Cuatrecasas, ilaç endüstrisinde yüksek etkili bir kariyere devam etti ve klinikte yaygın olarak kullanılan düzinelerce ilacın geliştirilmesine yardımcı oldu. Paul'un bu eklektik ve etkili bilim adamları grubunu oluşturduğu meclis, biyomedikal bilimlerde yerel ve küresel bir miras bıraktı. Modern tıp tarihinin en önemli program kurucularından biri olduğu da tartışılmazdır.

Kemoproteksiyon

1975'te istifa ettikten sonra Farmakoloji Bölümü'nü yönetmenin idari taleplerinden kurtulan Paul, araştırma kariyerinin sonraki 38 yılı için bir plan sağlayan temel bir inceleme makalesi yazdı. Kemoproteksiyonun kimyasal temelini ne olduğunu ve kanseri ve diğer hastalıkları önlemek için insan diyetinin nasıl optimize edileceğini belirlemeye çalıştı. Paul'un kemoproteksiyon alanına girişi bir tesadüf bileşenine sahipti. 1977'de, kendisi ve arkadaşları, delta-5-3-on steroidlerinin sıçan karaciğeri homojenatları tarafından çift bağlı izomerizasyonunun, detoksifiye edici enzim glutatyon S-transferaz

tarafından aracılık edildiğini tesadüfi bir keşif yaptılar. Glutatyon ve ilgili transferazlar iyi bilinen detoksifikasyon enzimleriydi ve kanserojenleri mutasyonlara neden olmaktan alkoyma yetenekleriyle tanınmışlardı. Paul, ilerlemiş kanserin tedavi edilmesinin imkânsız olmasa da her zaman zor olabileceğini takdir ederek, kişinin diyetini ayarlayarak kanserin başlangıcını önlemenin mümkün olabileceği ihtimaline hayran kaldı. Paul'un kanserden korunmanın ilk günleri hakkında söylediği gibi, "Konuyla ilgilenenleri barındıracak kadar yer yoktu." Bugün Amerikan Kanser Araştırmaları Derneği, her yıl birkaç bin katılımcıyı bir araya getiren bir kanser önleme toplantısı düzenliyor. Paul, Minnesota Üniversitesi'ndeki kanser bilimcisi Lee Wattenberg'in çalışmasından etkilendi. "Kemoprevansiyonun babası" olarak bilinen Wattenberg, fenotiyazın dâhil kimyasal maddelerin çevresel kanserojenlerin faaliyetlerini bozabilecek metabolik enzimleri indükleyebileceğini bildirdi. Genel teori, kansere yol açan mutasyonları üretmek için DNA ile kimyasal olarak reaksiyona giren kanserojenlerin, DNA yapısını değiştirmek için yeterli zaman ve konsantrasyon kazanmadan önce vücudun kendi enzimleri tarafından metabolik olarak temizlenebileceğiydi.

Wattenberg'in ilk çalışmasında, laboratuvarı, antioksidan gıda katkı maddesi bütillenmiş hidroksi toluen (BHT) veya turpgil sebzelelerin (karnabahar, lahanası, bahçe tereği, Çin lahanası, brokoli, Brüksel lahanası ve benzeri yeşil yapraklı yiyecekler) bileşikleri içerdiğini buldu. indol-3-karbinol gibi, sitokrom P450 enzimlerinin aktivitesini indükleyebilir. Bu enzimler, karsinojenleri detoksifiye edebilir. Paul, başlangıçta, bütillenmiş hidroksianizol (BHA) gıda katkı maddesinin glutatyon S-transferaz üretimini teşvik edebileceğini ve kanserojenlerin mutajenesini azaltabileceğini bağımsız olarak keşfeden Johns Hopkins meslektaşı Ernest Bueding ile yakın çalıştı. Birkaç yıl sonra Paul ve ekibi, kinon redüktazı BHA tarafından indüklenen anahtar enzimatik aktivite olarak tanımladı ve bu enzimi (Huggins ile yaptığı çalışmalardan yakından tanıdığı) potansiyel metabolik detoksifikasyona bağladı. Bir kez daha, sağlam bir kantitatif yüksek verimli kolorimetrik enzim testinin gücü sonraki çalışmalar için çok önemliydi. Böyle bir deney, bir M.D./Ph.D olan Hans Prochaska tarafından geliştirilmiştir. Paul'un laboratuvarında öğrencisi oldu ve kansere karşı koruyabilecek bileşikler arayışının temeli oldu. Paul, çeşitli indükleyicilerin yapı-aktivite ilişkisi analizine dayanarak,



faz II-hidrokarbon-reseptör hedeflemesine karşı faz II kemoprotektif enzimleri indüklemek için gerekli görünen spesifik elektrofilik özellikleri önerdi. Kinon redüktaz indükleyici bileşiklerin kimyasal yapılarının incelenmesi, birçoğunun , -doymamış karbonil parçalarını içeren Michael ilave alıcıları olduğu ve oldukça reaktif sistein kalıntısı (ları) ile donatılmış bir proteinin varlığının öngörüldüğü yönündeki ufuk açıcı gözlemlere yol açtı. Bu, "ligand-reseptör" etkileşimleri çağrıydı ve indükleyicilerin kimyasal olarak algılanması kavramı hemen benimsenmemişti. Paul, brokoli özütlerini kemoprotektif enzim indükleyicilerinin özellikle zengin bir kaynağı olarak tanımladığından, bu aktiviteye sahip olan ana bileşiği izole etmek için Hopkins kimya profesörü Gary Posner ile işbirliği içinde çalıştı. Çalışmaları, kapsamlı bir çabanın ardından, 1992 yılında sülforafan adı verilen doğal bir ürünün tanımlanmasına yol açtı. Sülforafan, önceden tarif edilmiş ancak üzerinde yeterince çalışılmamış bir bileşiktir. Bir metil sülfoksit grubuna bağlı bir kısa zincirli alkil izotiyosiyanatı içeren basit bir yapıya sahiptir. Paul ve meslektaşları, sülforafanın, kemoprotektif enzimlerin oldukça güçlü ve etkili bir indükleyicisi olduğunu gösterdi. Ekibi daha sonra, sülforafanın biyosentetik öncü formu ve kendisi de nispeten stabil bir glukozinolat olan glukorafaninin brokolide baskın olduğunu buldu. Bu tür diyetsel glukozinolatlar, homojenizasyon veya çiğneme sırasında meydana geldiği gibi, bitki dokusu hasarı üzerine enzimatik olarak fonksiyonel izotiyosiyanatlara işlenir. Bu nedenle, sülforafanın, kemoprotektif enzimlerin brokoli ekstraktlarında başlıca indükleyici olduğu keşfi, homojenizasyonun tesadüfi bir yan etkisiydi. Bunu, sülforafan üzerine bilimsel ilgi ve araştırmada katlanarak artış izledi ve bugün de devam ediyor. 1990'ların başlarında, Lewis ve Dorothy Cullman'ın cömert hayırseverliğiyle Paul, Johns Hopkins'te, kemoprotektif bileşiklerin kaynağı olarak brokoli yetiştirmeye ve optimize etmeye adanmış Brassica Kemikoruma Laboratuvarı'nın açılışını yaptı. Bu, bitki biyolojisinde kapsamlı

deneyim getiren Jed Fahey'in işe alınmasını sağladı. 1997'de Fahey ve Paul, brokoli tohumlarının ve genç filizlerin sülforafan öncülleri açısından en zengini olduğunu gösterdi ve bu, brokoli filizlerini içeren birçok klinik çalışmanın temeli haline geldi. 1990'ların sonlarına kadar, kemoprotektif enzimlerin sülforafan ve diğer Michael alıcıları tarafından uyarılmış ekspresyonunu destekleyen moleküler mekanizmalar bilinmiyordu. Masayuki Yamamoto ve meslektaşlarının Japonya'daki çalışmaları, bu süreçlere ilişkin anlayışımızı ileriye taşıyan önemli keşiflere yol açtı. Yamamoto'nun ekibi, transkripsiyon faktörü Nrf2'nin, indükleyici bileşiklere hücrel maruziyetle yukarı regüle edildiğini ve bunun karşılığında, büyük bir sitoprotektif protein ağını kodlayan genlerin ekspresyonunu tetiklediğini gösterdi. Daha da merkezi olarak, 1999'da Keap1 adlı bir proteinin Nrf2'yi baskılayarak çekirdeğe girmesini ve transkripsiyonu açmasını engellediğini bildirdiler. Ayrıca hücrelere eklenen indükleyici bileşiklerin Keap1 aracılı Nrf2 inhibisyonunu hafifletebileceğini de gösterdiler. 2002'de Paul ve Hopkins'in meslektaşı Albena Dinkova-Kostova, sistein açısından zengin Keap1 proteininin sülforafan gibi küçük moleküllü elektrofillerin doğrudan sensörü olduğunu göstermeye devam etti. Bu bulguyla, sitoprotektif enzim indüksiyonundan esas olarak sorumlu olan moleküler yol tanımlandı. Paul ve Thomas Kensler arasında uzun süredir devam eden işbirliği, Keap1-Nrf2 sinyalleme eksenine ilişkin bir dizi kavrayışa yol açtı. Kanser gelişimine karşı koruma konusundaki açık potansiyelinin aksine, daha son yıllarda Nrf2 bir proto-onkogen olarak tanımlandı, bu da onun iki ucu keskin bir kılıç olabileceğini ve optimal işlevi sağlamak için aktivitesinin sıkı bir şekilde kontrol edilmesi gerektiğini gösteriyor. Bu mekanik çalışmalara dayanarak, Paul'un ekibi ve diğer birçok laboratuvar, kansere ve diğer hastalıklara karşı koruma potansiyellerini belirlemek için hayvan ve insan çalışmalarında sülforafanı ve ilgili bileşikleri araştırdı. Çok sayıda çalışmada, bu tür bileşiklerin çeşitli kanserojen

maddelere maruz kalan hayvanlarda kanser başlangıcını azaltabileceği bildirilmiştir. İnsanlarda sülforafan, ultraviyole radyasyona maruz kalma ile oluşabilecek ciltte oluşabilecek enflamatuvar hasara karşı koruma sağlayabilir. En provokatif olarak, genç erkeklerde otizmin klinik özellikleri brokoli filiz özleri ile kısmen hafifletilebilir. Sülforafan içeren brokoli filizi özleri, çevresel kirleticilere karşı kaçınılmaz maruziyetle ilişkili sağlık risklerini azaltmak için şu anda tutumlu — düşük maliyetli — ilaçlar olarak geliştirilmektedir. Kemoproteksiyon alanı hem temel keşif hem de klinik uygulamada büyümeye devam ediyor ve tıbbın geleceğinde büyük bir rol oynamayı vaat ediyor. Paul'un enzimoloji araştırmasının ikinci tesadüfi dalı, eşzamanlı olarak uygulanan iki inhibitörün etkilerini analiz etmek için bir çerçevenin daha sonra doktora sonrası Ting-Chao (David) Chou ile birlikte geliştirilmesiydi. Başlangıçta, birden çok eşzamanlı inhibitörün metiyonin adenosiltransferaza (steroid hormon bozunma ürünleri tarafından inhibe edilen bir enzim) karşı etkisini değerlendirmek için tasarlandılar, hızlı bir şekilde yöntemin çok çeşitli biyolojik sistemlere genellenebileceğini fark ettiler, en önemlisi çoklu ilaç kombinasyonları durumu dâhil. Basit ve zarif Chou-Talalay yöntemi, bir ilaç kombinasyonunun (in vitro veya in vivo uygulanan) sinerjistik, katkı maddesi veya antagonistik olarak kolay atanmasına izin verir. Yöntem, iki farklı ilacın bir dizi sabit konsantrasyon oranının farmakolojik etkilerini değerlendirerek bir kombinasyon indeksi parametresini hesaplar. 1'lik bir kombinasyon indeksi, toplamsallığı, 1'den az sinerjiyi ve 1'den fazla antagonizmi gösterir. Yöntem günümüzde hala yaygın olarak kullanılmaktadır ve onu açıklayan makalenin atıf numaraları bilimsel literatürdeki en yüksekler arasındadır. Bilim Topluluğuna Hizmet Paul, üniversitenin seçkin bir üyesiydi. Mali ve sosyal açıdan sıkıntılı 60'lar ve 70'lerde kuruma zor kararlar boyunca rehberlik eden birkaç komitede de dâhil olmak üzere çok sayıda komitede görev yaptı. Üniversite rektörleri ve Tıp Fakültesi dekanlarıyla

onlarca yıldır yaptığı yazışmalar, onun düşünceli ve akıllıca analizlerine ve tavsiyelerine olan yüksek saygılarını gösteriyor. Her zaman güzelce yazılmış mektuplarındaki açılış paragrafları, kaçınılmaz olarak tüm zemini hazırladı, tıpkı 1971'de üniversite rektörü Milton Eisenhower'a yazdığı bir mektupta olduğu gibi. Bunu daha sonra, bir teşvik sisteminin akademik yaşamın birçok yönü üzerindeki olası etkilerinin, çoğu açık bir şekilde olmayan ve tümü hem klinik hem de temel bilim misyonlarına büyük aşinalığı yansıtan kapsamlı analizleri izledi. Sık sık iş arkadaşlarının başarılarını kaleme aldı. 1968'de Başkan Lincoln Gordon şöyle demiştir:

Bu mektubu, hala sahip olduğum çekinceleri iletmek amacıyla yazmıyorum... ancak, Tıp Kurumlarının, kendilerinden bu yana karşı karşıya kaldığı en önemli kararın kesinlikle ne olması gerektiğine dair tartışma çerçevesini geliştirdiğiniz için teşekkür ederim.

Paul, ulusal ve uluslararası düzeyde, örneğin, diğer akademik farmakoloji bölümlerinin bağımsız incelemeleri de dahil olmak üzere, tavsiye için arandı. Journal of Biological Chemistry'in yayın kurulu olan sayısız NCI görev gücüne benzer yardımlarda bulundu ve 1968'de

Ulusal Kanser Danışmanlığı Konseyi'ne kimyasal karsinogenez üzerine bir program olması gerektiğini önerdi. Bir NIH çalışma bölümünde yaptığı hizmetin takdiri olarak, 1967'de personel, altı ayetin ilkinde olduğu gibi, özünü kısa ve net bir şekilde yakalayan bir yazı yazdı:

Büyük kişisel çekiciliğe sahip bir adamı kaybediyoruz: Egzotik doğanın büyücüsü Paul Talalay. Tavırları cilalı - konuşması ve steroidler hakkındaki bilgisi devasa. Çünkü kortizon andros ve progesteronun her bir metabolitini bilir.

Kişisel Notlar

Paul Talalay, her şeyden önce, keşifleri kendi başlarına önemli kılmak için hem temel hem de klinik eğitiminden yararlanan, ancak neredeyse her zaman tıbbi bir avantajla, hayal gücü yüksek ve titiz bir bilim adamıydı. O aynı zamanda sıcak, destekleyici ve her zaman iyimser doğal bir liderdi. Yeteneği keskin bir göze, büyük bir bilgelik ve zekâyâ sahip olmasıydı. Birçoğu onun akılda kalan esprilerini anlatabilir. Yine de ailesini, arkadaşlarını ve meslektaşlarını her zaman daha iyi hissettirecek mükemmel bir doktor yeteneğine sahipti. Kusursuz bir şekilde seçilmiş ve zamanlanmış mizahi bir yorumla en zor durumları güvenilir bir şekilde etkisiz hale getirebilirdi. Nisan 2008'de John Hopkins Dergisi'ne verdiği bir röportajda, "En büyük korkum, mezar taşımda 'Brokoliyi meşhur etti' diyecek olmalarıdır." dedi. Fakülte, stajyerleri ve öğretmenlerinin sadık bir destekçisiydi. Paul kararlı ve başarılı bir problem çözücüyü ve yaklaşımında büyük bir sevinç ve şefkat vardı. Daha sonraki yıllarında, orta yaşlı meslektaşlarını, kendisi için doğru olduğunu düşündüğü için, en iyi keşiflerinin önlerinde olduğunu temin ederek neşeyle cesaretlendirdi. Paul, 10 Mart 2019'da 96. doğum gününe üç hafta kala aramızdan ayrıldı. 66 yıl boyunca en iyi arkadaşı olan eşi Pamela, dört başarılı çocuğu Tony, Susan, Rachel, Sarah, onların eşleri ve dört torunu tarafından hatırası yaşatılmaya devam ediyor.