

UN CÓDIGO MUY DULCE PARA EL CONTROL DE CALIDAD DEL PLEGAMIENTO DE GLICOPROTEINAS

Palabras clave: Bioquímica; glicoproteínas; células eucariotes; síntesis; control de calidad del plegamiento.
Key words: Biochemistry; glycoproteins; eukaryotic cells; synthesis; folding quality control.

■ **Armando J. Parodi**

Fundación Instituto Leloir

aparodi@leloir.org.ar

■ RESUMEN

En este artículo se reseña la labor de investigación del Dr. Armando J. Parodi. Los temas desarrollados se refieren al estudio del camino biosintético de glicosilación de proteínas en células eucariotas y al control de calidad del plegamiento de glicoproteínas en dichas células

■ 1. MI CARRERA UNIVERSITARIA. ELECCIÓN Y DESARROLLO DE LA MISMA

Nací en Buenos Aires en 1942 en una familia a la que podríamos calificar de clase media. Mi padre era médico pero nunca practicó la medicina asistencial sino que siguió una carrera académica. Cuando falleció, hace ya muchos años, era miembro de la Carrera del Investigador Científico del CONICET (entidad de la que fue miembro de su directorio en la década de 1960) y profesor titular de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires (UBA). Obtuvo su doctorado en el Instituto de Fisiología de la misma Facultad a comienzos de la

década de 1930, trabajando bajo la dirección de Bernardo A. Houssay. Uno de sus compañeros durante su período doctoral fue Luis F. Leloir, hecho éste que determinó una estrecha amistad entre ambos. Menciono estos hechos porque tuvieron, como veremos más abajo, una influencia fundamental en mi elección de vida profesional. Mi madre era uruguaya y mis padres se conocieron en la década del 20 en los inolvidables veranos de las playas de Punta del Este, en ese entonces poco más que un pueblo de pescadores. Este hecho determinó mi apego a la Banda Oriental como refugio ante adversidades políticas y lugar de descanso. Como se verá, mis afinidades uruguayas también tuvieron influencia en mi elección de director de Tesis Doctoral.

Mis padres eran católicos fervientes (cosa algo infrecuente en un investigador como era mi padre) y me enviaron a un colegio religioso para mi educación primaria y secundaria. Cabe mencionar que la situación política en la Argentina obligó a mi familia a trasladarse al Uruguay,

donde cursé el último año de primaria y el primero de secundaria. Volvimos al país a principios de 1956 y aquí terminé mis estudios secundarios. Nunca pensé mucho en que carrera universitaria seguir, aunque sabía, como nieto de inmigrantes, que mis padres esperaban que siguiese alguna. Al comienzo de mi último año secundario decidí tomar lo que se llamaba un “test vocacional” a fin de encontrar la carrera que mejor se adaptaba a mi personalidad. El test era extraordinariamente complejo y durante varias sesiones tuve reuniones con psicólogos y realicé diferentes test manuales y artísticos para determinar mis habilidades. Naturalmente me preguntaron qué profesiones consideraba yo que me eran más apropiadas. Mi respuesta fue Derecho, Economía, Arquitectura y Medicina en ese orden. El resultado estaba planeado ser entregado unos dos meses después de la última entrevista. Mientras tanto un exalumno de mi colegio (y alumno en ese momento de la carrera de Matemáticas de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales de la UBA) (FCEN) volvió a éste para anunciarnos que en dos

días se cerraba la inscripción al curso de ingreso a dicha facultad, que en ese entonces se cursaba junto con el último año secundario. También nos informó que las carreras de Química, Física, Matemáticas, Geología y Biología se cursaban en dicha casa de estudios.

Sin pensarlo dos veces elegí Química como carrera (seguramente influido por el excelente profesor de Química que tenía en la escuela secundaria) y me anoté en el curso de ingreso que comenzó poco después. El entrar en un centro de educación pública realmente cambió mi visión del mundo. El gobierno del Gral. Perón, que había prácticamente destruido al sistema educativo superior público (el único que existía en la Argentina en ese momento) había sido depuesto hacía poco. Toda la UBA, y especialmente la FCEN, estaban siendo reconstruidas prácticamente de la nada. Los profesores que tuve, no solo en el curso de ingreso sino también durante mis años de carrera (1960-1964) eran en la mayoría de los casos extremadamente jóvenes y dinámicos. Muchos de ellos habían recién vuelto de un periodo posdoctoral de 2-3 años en Europa o EE. UU. La atmósfera de la Facultad, totalmente distinta al ambiente conservador del colegio secundario, inmediatamente me entusiasmó. Eran los años en que Fidel Castro había recién tomado el poder en Cuba, y sus políticas originaban interminables discusiones entre los estudiantes.

Luego de pasado un mes en el curso de ingreso tuve mi último encuentro para enterarme del resultado del "test vocacional" que había tomado. Para mi sorpresa, las carreras recomendadas eran Ingeniería Química, Bioquímica y Química, en ese orden. Derecho, Economía y las otras carreras sugeridas por mí no eran recomendadas. He guardado

el informe escrito que consignaba el resultado de mi test como prueba fehaciente de que los psicólogos no siempre dan las respuestas equivocadas cuando se les plantea algún problema.

Mis años de Facultad transcurrieron sin sobresaltos trascendentes. Obtuve muy buenas calificaciones en general y especialmente en Física, Físicoquímica y Química Orgánica. Recuerdo con especial gratitud a dos profesores, Boris Spivacow, que me hizo comprender la belleza de la Matemática y Juan Roederer, que hizo lo propio en Física. También participé brevemente en política estudiantil a nivel del Centro de Estudiantes. Durante mi último año de carrera decidí obtener un doctorado y comencé un proyecto preliminar de investigación en el Dto. de Química Orgánica. Mi padre (que no había podido disimular su alegría cuando unos años antes le comunicó que no iba a seguir Derecho), me insistió repetidamente que el mejor lugar para realizar una Tesis Doctoral era el Instituto de Investigaciones Bioquímicas "Fundación Campomar" (IIBFC) (ahora llamado Fundación Instituto Leloir), la institución privada de investigación fundada por Luis F. Leloir en 1947. Aunque existía un convenio entre dicha institución y la FCEN, la existencia de Leloir y de su Instituto era prácticamente desconocida por entonces (1965) por los estudiantes universitarios, ya que ambas instituciones estaban bastante distantes en la ciudad de Buenos Aires y Leloir aún no había obtenido el Premio Nobel.

■ 2. DESARROLLO DEL DOCTORADO Y DE DOS PERÍODOS POSDOCTORALES

Como hijo obediente seguí el consejo de mi padre y tomé el curso de Bioquímica Avanzada que se dictaba en el IIBFC. Este curso resultó

ser muy especial y fue el cursarlo lo que me convenció de seguir una carrera académica. Eramos únicamente cinco alumnos ese año y debíamos concurrir por lo menos 8 horas diarias durante cuatro días semanales por un semestre. Teníamos clases magistrales, seminarios, clases de problemas, todo acompañado por un pequeño proyecto de investigación dirigido personalmente por un investigador del Instituto. Los que obtenían mejores notas tenían la opción de quedarse en el Instituto para realizar su Tesis Doctoral. Ese año había solamente tres vacantes. Luego del examen final me tomé dos semanas de vacaciones en las playas uruguayas a pesar de que era el mes de Agosto. Al regresar encontré, para mi desesperación, que mis otros compañeros ya habían elegido a su director de Tesis y que el único grupo libre era el dirigido por Leloir, al cual me vi forzado a ingresar. Para esa época yo tenía 23 años y consideraba que Leloir, que tenía casi 60, era una persona muy mayor incapaz ya de realizar investigaciones estimulantes en el futuro. La opinión de mis otros dos compañeros, que ya habían optado por otros grupos de trabajo, era similar. No quiero pensar lo que piensan de mí los estudiantes ahora que sobrepasé la edad de Leloir en esos días. Me tomó alrededor de cuatro años el completar mi Tesis Doctoral. Leloir y su grupo habían sido capaces de sintetizar glucógeno de alto peso molecular (glucógeno particulado) en el tubo de ensayo usando glucosa-1-fosfato (Glc 1-P) como sustrato y glucógeno fosforilasa como enzima catalizadora, es decir invirtiendo el camino fisiológico de degradación del polisacárido. Observaron, sin embargo, que el glucógeno así sintetizado tenía ciertas propiedades físicas distintas del que se podía extraer del hígado de mamíferos. Lo que hice esencialmente en mi Tesis fue sintetizar glucógeno particulado usando

preparaciones de glucógeno sintético parcialmente purificado como enzima y UDP-Glc como sustrato. El producto así obtenido tenía propiedades físicas similares al nativo, lo que constituía la prueba más directa de que *in vivo* la síntesis de glucógeno procedía utilizando UDP-Glc y no Glc 1-P como sustrato. Para mi desesperación Leloir no mostraba mucho interés por los resultados que iba obteniendo en mi trabajo experimental. Retrospectivamente (pero ciertamente no entonces) le estoy agradecido por ello, ya que su actitud me enseñó como llevar a cabo una investigación en forma independiente. De los cinco trabajos que salieron de mi Tesis Doctoral, el nombre de Leloir aparece en solo dos de ellos, pues según él su contribución a los tres restantes había sido prácticamente nula. Siempre tuve la duda si esa era la razón verdadera o era simplemente que consideraba que los trabajos no eran muy buenos.

En 1970 le fue otorgado a Leloir el Premio Nobel de Química por su descubrimiento de los nucleótido-azúcares y de su rol en la síntesis de oligo- y polisacáridos. También en ese año di mi examen final de Tesis Doctoral. El jurado estaba compuesto por Ranwell Caputto, Carlos Cardini y Alejandro Paladini, tres miembros del equipo (integrado además por Raúl Trucco, Enrico Cabib y Luis Leloir) que había realizado los descubrimientos que habían merecido la concesión del Premio Nobel al último de los nombrados. El examen tuvo lugar en la sede del IIBFC (Obligado y Monroe) unas tres semanas luego que se conociese la adjudicación del Premio Nobel. La fecha fue elegida a propósito para aprovechar la presencia de Caputto en Buenos Aires, ya que éste se había trasladado expresamente desde la ciudad de Córdoba, donde vivía, al IIBFC para estar presente en una gran fiesta organizada para celebrar

el premio. Nos reunimos el jurado, un empleado de la FCEN que custodiaba el libro donde se asentaban las actas de los exámenes y yo en un laboratorio un tanto aislado del lugar donde se llevaba a cabo la reunión, cuando luego de unos momentos acertó a pasar por el pasillo un mozo con una bandeja. Sin tener en absoluto idea de los que estaba sucediendo, entró al laboratorio y nos ofreció, una y otra vez las bebidas y alimentos que se consumían en la reunión. Ignoro si fue porque mi Tesis era realmente buena o por el conocido efecto euforizante del alcohol, pero lo cierto es que obtuve Sobresaliente.

En la década de 1960, Phillips Robbins (*M.I.T*) y Jack Strominger (*Harvard*) demostraron que oligosacáridos unidos a lípidos (poliprenoles) eran intermediarios en la síntesis de diversos polisacáridos de la pared bacteriana. Leloir, junto con un estudiante posdoctoral (Nicolás Behrens) que había realizado su Tesis Doctoral con Cabib, decidió estudiar si algo similar ocurría en células eucariotas. En 1970 publicaron un trabajo donde comunicaban que incubando membranas microsomales de hígado de rata con UDP-Glc se formaba dolichol-P-Glc. El dolichol es un poliprenol, más grande que el bacteriano, que ya era conocido como constituyente de membranas biológicas, pero su rol en el metabolismo era desconocido. También comunicaron en ese mismo trabajo que re-incubando dolichol-P-Glc con los mismos microsomas, el residuo de glucosa era transferido a un compuesto endógeno que sugirieron era una proteína ya que el producto era insoluble en ácido tricloroacético 10 % y en una mezcla de cloroformo-metanol-agua (3-2-1) aparecía en la interface proteica. Una vez terminada la Tesis me uní a este grupo y mi primera tarea fue confirmar que efectivamente el producto de

reacción era una glicoproteína. Encontré que el digerir exhaustivamente las membranas que contenían el producto de reacción con proteasas inespecíficas no llevaba a una solubilización del producto de reacción en ácido tricloroacético 10 %. Debo decir que estas reacciones químicas se llevaban a cabo utilizando UDP-[¹⁴C]Glc como precursor. ¿Que era entonces este compuesto? Nos llevó un año a dos estudiantes posdoctorales y a un Premio Nobel de Química, los tres trabajando activamente en la mesada el encontrar la identidad de la sustancia. Tanto esfuerzo nos costaba su identificación que Leloir lo apodó, con su habitual sentido del humor "Cagolina". Así aparece en nuestros cuadernos de laboratorio, aunque en las publicaciones lo llamamos GEA por *Glucosylated Endogenous Acceptor*. El compuesto resultó ser dolichol-P-P-GlcNAc₂Man₉Glc₃ (cabe aclarar que GlcNAc, Man y Glc son abreviaturas de los monosacáridos N-acetilglucosamina, manosa y glucosa, respectivamente). La presencia de un puente pirofosfato nos decía que éste era un intermediario y no un producto final. Sin embargo repetidas y prolongadas incubaciones del compuesto con membranas de hígado de rata no resultaban en la transferencia del oligosacárido a macromoléculas sino en la producción de glucosa libre. Por una de esas inspiraciones que da la desesperación luego de muchos ensayos fallidos se me ocurrió limitar la incubación de las mezclas de reacción a pocos minutos. Así encontramos que efectivamente el oligosacárido se transfería en bloque a proteínas endógenas y luego las glicoproteínas así formadas liberaban sus residuos de glucosa en una reacción que creímos no fisiológica pero que, como veremos luego, si lo era. Inicialmente no teníamos conciencia clara de la relevancia de lo que habíamos encontrado, fundamentalmente porque para ese

entonces no sabíamos la composición exacta del oligosacárido, solo que contenía glucosas, y además porque las glicoproteínas que se encuentran en la naturaleza no poseen glucosas. Pocos años después el nuestro y otros grupos, fundamentalmente el de Stuart Kornfeld en la *Washington University* de *St. Louis*, mostraron que lo que habíamos encontrado era nada más y nada menos que el camino bioquímico de síntesis de todas las glicoproteínas unidas a asparagina (esta debe estar en la secuencia Asn-X-Ser/Thr para recibir el oligosacárido). Esta modificación pos-traduccional ocurre en aproximadamente un 35 % de todas las proteínas sintetizadas en células de mamíferos. Lo que comunicó Kornfeld era esencialmente que el oligosacárido $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_3$, luego de transferido a la proteína era procesado, primero en el retículo endoplásmico y luego en las distintas cisternas del aparato de Golgi mediante la remoción y agregado de monosacáridos que dan como resultado una extensa variedad en la estructura de los oligosacáridos presentes en las glicoproteínas de la superficie externa de la célula y que son fundamentales para conferir especificidad a distintos procesos biológicos como el reconocimiento célula-célula, célula-hormona, célula agente infeccioso, etc.

El describir el camino biosintético de las glicoproteínas fue la última gran contribución de Leloir a la Bioquímica. Tuve la gran suerte de participar activamente en dichos descubrimientos que abrieron un nuevo campo en la investigación que fue inmediatamente seguido por muchos otros grupos en todo el mundo. Fueron esos años muy excitantes para mí, cuando mandábamos a publicar trabajos cada pocas semanas.

En 1972 partí para realizar un segundo entrenamiento posdoctoral

en el Departamento de Biología Molecular del *Institut Pasteur* de Paris. Tuve becas de la Unión Internacional Contra el Cáncer y de la Fundación Guggenheim. Luego de dos años en los que recibí un entrenamiento intensivo en Biología Molecular de virus oncogénicos regresé al IIBFC.

■ 3. MI LABOR COMO INVESTITOR INDEPENDIENTE

Las condiciones políticas y económicas del momento no permitían el poner en marcha un nuevo laboratorio dedicado a esta especialidad por lo que decidí retomar la temática de síntesis de glicoproteínas, que tantas satisfacciones me había dado. Demostré entonces, ya como director de un grupo independiente, que el camino de síntesis de glicoproteínas descrito inicialmente para células de mamíferos ocurría también en células eucariotas mucho más simples, como las levaduras. Esto permitió que varios grupo, entre ellos el mío, pudiésemos realizar un estudio genético de dicho camino bioquímico. Disconforme con el ambiente opresivo que se vivía en el país me trasladé, de 1977 a 1980 a la *Duke University (North Carolina, USA)* donde continué mis trabajos de síntesis de glicoproteínas en levaduras. Volví al país en 1980 al no poder cambiar mi visa de estudiante a la de residente permanente. A poco de llegar apareció un trabajo de un colega británico donde éste aseguraba que el camino biosintético de glicoproteínas que involucraba la formación de intermediarios de tipo poliprenol-azúcares y que ya se sabía operaba en mamíferos, hongos y plantas, no ocurría en protozoarios como los tripanosomátidos. Decidí entonces desafiar este concepto. Encontré que dichos protozoarios utilizaban ciertamente el camino biosintético que involucraba la existencia de intermediarios de

tipo poliprenol-azúcares, pero que eran incapaces de sintetizar dolichol-P-Glc. Debido a esto el oligosacárido que transferían a proteína no tenía la composición $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_3$, como en mamíferos, hongos y plantas sino $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_{6,7,0,9}$, dependiendo de las especies, ya que algunas de ellas carecían de algunas manosil-transferasas que les permitiesen sintetizar el oligosacárido completo conteniendo 9 manosas. Lo interesante resultó estudiar el procesamiento del oligosacárido una vez transferido a proteína. Encontré que estos recibían transitoriamente un residuo de glucosa para formar $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_{6,7,0,9}\text{Glc}_1$, dependiendo de las especies. La glucosa era dada por el UDP-Glc y removida poco tiempo después por una glucosidasa. Esto parecía un ciclo fútil. ¿Para que la célula transfería la glucosa para removerla luego? ¿Para que este gasto de energía? Casi inmediatamente encontré que la misma reacción ocurría en mamíferos y plantas: una vez transferido $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_3$ a proteína, los restos glucosa eran removidos y al oligosacárido $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9$ resultante le era agregado transitoriamente un residuo de glucosa. Encontré que esta reacción ocurría en el lumen del retículo endoplásmico, es decir la primera localización subcelular de proteínas que seguirían el llamado camino de secreción, cuyo destino final es el medio extracelular, la membrana plasmática u otras estructuras intracelulares. También encontré que incubando en un tubo de ensayo membranas de dicho retículo de hígado de rata junto con UDP-Glc se monoglucosilaban glicoproteínas endógenas. Decidí entonces purificar a la glucosiltransferasa responsable de esta reacción, para lo cual necesitaba un método de ensayo para la enzima e independizarme de las glicoproteínas aceptoras endógenas presentes en las membranas hepáticas. Agregué glicoproteí-

nas purificadas que sabía tenían oligosacáridos de estructura $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9$ al tubo de ensayo conteniendo membranas de hígado de rata y UDP-Glc esperando encontrar una estimulación en la monoglucosilación por sobre la que daban las glicoproteínas endógenas. Nada de eso ocurrió. Esto retrasó la investigación unos tres-cuatro años. De tanto en tanto volvíamos en el grupo de trabajo al proyecto casi olvidado cambiando las condiciones de reacción (distintos pH, temperatura, tiempo de reacción, distintos detergentes, etc.) siempre con resultados negativos. Recordé entonces un trabajo publicado unos 10 años atrás (1976) por el grupo de William Lenarz. En dicho trabajo Bill y sus colaboradores comunicaron que incubando en un tubo de ensayo membranas de hígado de rata, conteniendo la enzima oligosacariltransferasa, con una proteína nativa correctamente plegada (lactalbumina) y un dolichol-P-P-oligosacárido como sustrato, solo se obtenía una transferencia a la proteína si ésta era previamente desnaturalizada. Esto se debía a que el tripleteceptor (Asn-X-Ser/Thr) estaba oculto en el interior de la molécula, es decir no accesible, en la estructura tridimensional (conformación) nativa de la proteína. Se me ocurrió entonces que algo similar podría estar ocurriendo en nuestro sistema, esto es, podría ser posible que el oligosacáridoceptor de la glucosa ($\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9$) pudiese estar oculto en el interior de la molécula de las glicoproteínas correctamente plegadas que agregábamos a la mezcla de reacción. Ésta es una idea francamente ridícula por la sencilla razón de que al ser un oligosacárido una estructura altamente hidrofílica, no puede estar enterrado en el interior de la molécula proteica sino expuesto al exterior en contacto con el medio acuoso. No obstante, una vez más en la desesperación generada

por tantos intentos fallidos realicé el experimento ridículo y ¡Oh albricias!: funcionó. Purificamos la enzima, la cual recibe el nombre de UDP-Glc:glicoproteína glucosiltransferasa (UGGT). Para que esta enzima transfiera glucosas al oligosacárido de una glicoproteína para formar oligosacáridos monoglucosilados, la parte proteica de la glicoproteína aceptora debe estar en conformación no nativa. Y aquí cabe una breve explicación: una proteína posee una estructura lineal formada por una sucesión de aminoácidos (hay 20 diferentes), de número y orden de ellos que son particulares para cada proteína. Una vez sintetizada, una proteína adquiere una estructura tridimensional particular que es propia de cada proteína y que depende de la secuencia y número de aminoácidos. Es esta estructura tridimensional la que confiere las propiedades biológicas características de cada proteína. El pasaje de una estructura lineal a una tridimensional se denomina plegamiento y este es un proceso azaroso que muchas veces conduce a estructuras tridimensionales aberrantes. La célula debe entonces, primero, ayudar a la proteína a adquirir su estructura tridimensional correcta y luego, eliminar las proteínas mal plegadas. Esta ayuda es llevada a cabo por las llamadas chaperonas, que son proteínas que interactúan con los intermediarios de plegamiento e impiden la agregación de ellos. Cabe agregar que las proteínas que van a seguir el camino de secreción penetran en el lumen del retículo endoplásmico en conformación lineal por un poro en la membrana de dicho retículo y es en el lumen (interior) del retículo donde adquieren su estructura tridimensional correcta. Por otra parte, a medida que dicha estructura lineal penetra en el lumen es cuando la proteína recibe al oligosacárido transferido desde el derivado de dolichol-P-P para convertirse en una

glicoproteína. Las proteínas que fallan en su plegamiento no continúan su camino a las distintas cisternas del aparato de Golgi sino que son degradadas proteolíticamente. ¿Como una célula reconoce que una proteína está correctamente plegada y le permite seguir el camino de secreción y si no lo está derivarla a su destrucción? ¿Como impide una célula que un intermediario de plegamiento, es decir una proteína que aún no ha llegado a adquirir su estructura tridimensional termodinámicamente más estable siga el camino de secreción?. Esto es lo que se denomina el "control de calidad del plegamiento de glicoproteínas". El mío y otros grupos, principalmente el de Ari Helenius del Dto. de *Cell Biology (Yale University)*, encontramos que la UGGT juega un papel fundamental en este control de calidad: el oligosacárido $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_3$ una vez transferido a la proteína es de-glucosilado para formar sucesivamente $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_2$ y $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_1$. El compuesto monoglucosilado interactúa entonces con dos lectinas, calnexina y/o calreticulina que son proteínas residentes del retículo endoplásmico que reconocen específicamente la estructura monoglucosilada (se denominan lectinas a proteínas que reconocen estructuras específicas de oligosacáridos). Esta interacción lectina-intermediario de plegamiento impide el pasaje de este último al aparato de Golgi y a la vez aumenta la eficiencia de plegamiento. Una glucosidasa remueve entonces el residuo de glucosa remanente, liberando así a la proteína del ancla de las lectinas. Si ésta ya está bien plegada continúa su viaje por el camino de secreción. Si no lo está, la UGGT reconoce su conformación no nativa y vuelve a generar la estructura $\text{GlcNAc}_2\text{Man}_9\text{Glc}_1$ que a su vez vuelve a interactuar con las lectinas. Y este ciclo continúa hasta que la proteína adquiere su estructura

tridimensional nativa (estable) o alternativamente la célula reconoce que nunca la podrá adquirir y la envía a degradación. El mérito de este trabajo fue revelar algo totalmente inesperado: que la estructura de un oligosacárido en una proteína puede dar a la célula información sobre la conformación de la parte proteica. Este mismo concepto fue confirmado por otros investigadores cuando comunicaron que la remoción de residuos de manosa, que también sucede en el retículo endoplásmico, da información a la célula de que una glicoproteína está irremediablemente mal plegada y debe ser degradada. La formulación del mecanismo del control de calidad del plegamiento de glicoproteínas es de principio de los noventa y desde entonces he continuado trabajando en la misma temática. Por ejemplo, encontramos que la glucosidasa que quita el residuo de glucosa transferido por la UGGT regula de manera muy sofisticada el tiempo de interacción de las lectinas con los intermediarios de plegamiento monoglucosilados. Cabe mencionar que el control de calidad del plegamiento de glicoproteínas es el que determina la retención en el retículo endoplásmico, y luego la degradación de glicoproteínas mutantes causantes de enfermedades genéticas hereditarias. Como dato curioso mencionaré un caso en que el control de calidad parecería tener un resultado adverso. La causa más común de la fibrosis quística es la ausencia de un aminoácido (Fenilalanina) en la posición 508 del canal de cloruro, normalmente presente en la membrana plasmática (exterior) de una célula. El canal mutante mencionado es retenido en el retículo endoplásmico y luego degradado a pesar de que la mutación no afecta la actividad del canal. Es decir la falta de la fenilalanina determina un mal plegamiento de solo una parte de la proteína, que no es esencial para la actividad bio-

lógica, pero que sin embargo impide su traslado a la membrana externa. En la última sección (Bibliografía) se mencionan tres trabajos de revisión que resumen mi trabajo de investigación independiente más relevante.

■ 4. MI CARRERA CIENTÍFICA

Ingresé en la Carrera del Investigador Científico del CONICET en 1970 y llegué a ser Investigador Superior de la misma. Fui miembro y presidente de las Comisiones Asesoras de Química y de Bioquímica y de la Junta de Calificación. En cuanto a mi carrera docente fui Profesor Titular Regular Dedicación Exclusiva en la FCEN-UBA y en la Universidad Nacional de San Martín (UNSAM). Dirigí 18 Tesis Doctorales. Mis trabajos tuvieron cierta trascendencia internacional. Recibí subsidios de distintas agencias dependientes del gobierno argentino y por 22 años fui titular de un subsidio del NIH (*National Institutes of Health*, gobierno federal de EE.UU.). También recibí durante 15 años subsidios de la fundación privada americana más importante de financiamiento de investigaciones en ciencias biomédicas (*Howard Hughes Medical Institute*). La *World Health Organization* financió mis trabajos sobre tripanosomátidos. Fui elegido miembro de la Academia Nacional de Ciencias en Córdoba, de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (Buenos Aires), de la *Academia Brasileira de Ciencias*, de la Academia de Ciencias de América Latina, de la Academia Mundial de Ciencias (*The World Academy of Sciences*, TWAS), de la *American Academy of Microbiology* y de la *National Academy of Sciences* (EE. UU.). Fui nombrado miembro de Honor de la Sociedad Española de Bioquímica y Biología Molecular y Profesor Honorario de la Facultad de Medicina de la Universidad de la

República (Uruguay). Me fue otorgado el Premio "Karl Meyer", máxima distinción de la Society for Glycobiology (EE.UU.) (2011) y en el plano local el Premio de la Fundación Bunge y Born en Bioquímica (2005). Fui Presidente de la Sociedad Argentina de Investigación en Bioquímica y Biología Molecular (SAIB) y miembro del Consejo Directivo de la federación que agrupa a las sociedades similares del continente americano (PABMB por *Panamerican Association for Biochemistry and Molecular Biology*).

Desarrollé casi toda mi carrera científica en el IIBFC donde llegué a ser Director y Presidente del Consejo de Administración. Escribí *casi toda* porque además de los dos años pasados en Francia y de los dos en EE.UU trabajé por algo más de tres años en el Instituto de Investigaciones Biotecnológicas de la UNSAM al comienzo del milenio. Quiero terminar aquí con palabras que hace ya unos años Leloir expresó en una reseña de su vida y que querría hacer mías: *"algo más de 50 años han pasado desde que comencé a hacer investigación. Éstos han sido años de trabajo intenso que tuvieron momentos agradables. La investigación tiene muchos aspectos que la hacen una actividad atractiva. Uno de ellos es el placer intelectual de descubrir hechos previamente desconocidos. También hay aspectos humanos que merecen ser mencionados. Uno de los momentos más placenteros de mi vida fueron aquellos en los cuales trabajé con colaboradores entusiastas e inteligentes que poseían un buen sentido del humor. La discusión de los interrogantes que genera la investigación con dichas personas siempre es una experiencia estimulante. La parte menos agradable de la investigación, la labor rutinaria que acompaña a la mayoría de los experimentos, está más que compensada por aspectos interesantes*

que incluyen conocer y a veces ganar la amistad de personas con un intelecto superior de distintas partes del mundo. El balance es claramente positivo”.

■ BIBLIOGRAFÍA

Caramelo, J. J., Parodi, A. J. (2015)

A sweet code for glycoprotein folding. FEBS Letters **589**, 3379-3387.

Parodi, A. J. (2000) *Protein glycosylation and its role in protein folding.* Annual Review of Biochemistry **69**, 69-93.

Trombetta, E. S., Parodi, A. J. (2003) *Quality control and protein folding in the secretory pathway.* Annual Review of Cell and Developmental Biology. **19**, 649-676.

El artículo 41 de la Constitución Nacional expresa:

Todos los habitantes gozan del derecho a un ambiente sano, equilibrado, apto para el desarrollo humano, y para que las actividades productivas satisfagan las necesidades presentes, sin comprometer las de las generaciones futuras.

Para ello, trabajamos en el Instituto de Investigación e Ingeniería Ambiental (3iA) en docencia, investigación y desarrollo tecnológico.

3iA



UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
SAN MARTÍN



INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL
w w w . u n s a m . e d u . a r

Recuperación de tecnologías ancestrales y sustentables en Jujuy

La vicuña como modelo de producción sustentable

Ciencia e historia se unen para preservar a la vicuña

**Cazando vicuñas anduve en los cerros
Heridas de bala se escaparon dos.**

**- No caces vicuñas con armas de fuego;
Coquena se enoja, - me dijo un pastor.**

**- ¿Por qué no pillarlas a la usanza vieja,
cercando la hoyada con hilo punzó ?**

**- ¿Para qué matarlas, si sólo codicias
para tus vestidos el fino vellón ?**

Juan Carlos Dávalos, Coquena

Lo primero es pedir permiso a la Pachamama. Porque a ella, en la cosmovisión andina, pertenecen las vicuñas que se extienden por el altiplano de Perú, Bolivia, Chile y Argentina. Una ceremonia ancestral, unida a la ciencia moderna, permite que comunidades y científicos argentinos exploten de manera sustentable un recurso de alto valor económico y social.

La vicuña es una especie silvestre de camélido sudamericano que habita en la puna. Hasta 1950-1960 estuvo en serio riesgo de extinción debido a la ausencia de planes de manejo y conservación. Desde la llegada de los españoles se comenzó con la caza y exportación de los cueros para la obtención de la fibra, que puede llegar a valer U\$600 por kilo, lo que llevó a la casi desaparición de estos animales. Por ese entonces, la población de vicuñas en América era cercana a los 4 millones de ejemplares, en 1950 no eran más de 10.000.

A fines de la década del 70 Argentina, Bolivia, Chile, Perú y Ecuador firmaron un Convenio para la conservación y manejo de la vicuña que permitió recuperar su población hasta contar en la actualidad con más de 76 mil ejemplares en nuestro país.

En Santa Catalina, Jujuy, a 3.800 metros sobre el nivel del mar, investigadores de CONICET, junto a comunidades y productores locales, han logrado recuperar una tecnología prehispánica sustentable para la obtención de la fibra de vicuña. Se trata de una ceremonia ancestral y captura mediante la cual se arrean y esquilan las vicuñas silvestres para obtener su fibra. Se denomina chaku y se realizaba en la región antes de la llegada de los conquistadores españoles. Según Bibiana Vilá, investigadora independiente de CONICET y directora del grupo Vicuñas, Camélidos y Ambiente (VICAM) *“Hoy podemos pensar en volver a hacer ese chaku prehispánico sumado a técnicas que los científicos aportamos para que las vicuñas pasen por toda esa situación sufriendo el menor stress posible. Las vicuñas vuelven a la naturaleza, la fibra queda en la comunidad, y nosotros tomamos un montón de datos científicos.”*

El chaku

El chaku es una práctica ritual y productiva para la esquila de las vicuñas. Durante el imperio inca, las cacerías reales o chaku eran planificadas por el inca en persona. En esta ceremonia se esquilaba a las vicuñas y se las liberaba nuevamente a la vida silvestre. La fibra obtenida era utilizada para la confección de prendas de la elite y su obtención estaba regulada por mecanismos políticos, sociales, religiosos y culturales. Se trata de un claro ejemplo de uso sustentable de un recurso natural. Hugo Jacobaccio, zoológico y investigador principal de CONICET, explica que *“actualmente el chaku concentra hasta 80 personas, pero durante el imperio inca participaban de a miles. Hoy las comunidades venden esa fibra a acopiadores textiles y obtienen un ingreso que complementa su actividad económica principal, el pastoreo de llamas y ovejas.”*

El proceso comienza con la reunión de todos los participantes, luego toman una soga con cintas de colores reunidos en semicírculo y arrean lentamente a las vicuñas guiándolas hacia un embudo de red de 1 km de largo que desemboca en un corral. Cuando los animales están calmados se los esquila manipulándolos con sumo cuidado para reducir el stress y se los libera. Hoy, 1500 años después del primer registro que se tiene de esta ceremonia, la ciencia argentina suma como valor agregado: el bienestar animal y la investigación científica. En tiempo del imperio Inca, el chaku se realizaba cada cuatro años, actualmente se realiza anualmente sin esquila a los mismos animales *“se van rotando las zonas de captura para que los animales renueven la fibra”* explica Jacobaccio. Según Vilá *“es un proyecto que requiere mucho trabajo pero que demuestra que la sustentabilidad es posible, tenemos un animal vivo al cual esquilamos y al cual devolvemos vivo a la naturaleza. Tiene una cuestión asociada que es la sustentabilidad social ya que la fibra queda en la comunidad para el desarrollo económico de los pobladores locales.”*

Yanina Arzamendia, bióloga, investigadora asistente de CONICET y miembro del equipo de VICAM, explica que se

esquilan sólo ejemplares adultos, se las revisa, se toman datos científicos y se las devuelve a su hábitat natural. Además destaca la importancia de que el chaku se realice como una actividad comunitaria *“en este caso fue impulsada por una cooperativa de productores locales que tenían vicuñas en sus campos y querían comercializar la fibra. Además participaron miembros del pueblo originario, estudiantes universitarios y científicos de distintas disciplinas. Lo ideal es que estas experiencias con orientación productiva tengan una base científica.”*

Paradojas del éxito.

La recuperación de la población de vicuñas produjo cierto malestar entre productores ganaderos de la zona. Muchos empezaron a percibir a la vicuña como competencia para su ganado en un lugar donde las pasturas no son tan abundantes. En este aspecto el trabajo de los investigadores de CONICET fue fundamental, según Arzamendia *“el chaku trae un cambio de percepción que es ventajoso para las personas y para la conservación de la especie. Generalmente el productor ve a las vicuñas como otro herbívoro que compite con su ganado por el alimento y esto causa prejuicios. Hoy comienzan a ver que es un recurso valioso y ya evalúan tener más vicuñas que ovejas y llamas. Nuestro objetivo es desterrar esos mitos”,* concluye.

Pedro Navarro es el director de la Cooperativa Agroganadera de Santa Catalina y reconoce los temores que les produjo la recuperación de la especie: *“Hace 20 años nosotros teníamos diez, veinte vicuñas y era una fiesta verlas porque habían prácticamente desaparecido. En los últimos años se empezó a notar un incremento y más próximamente en el último tiempo ya ese incremento nos empezó a asustar porque en estas fincas tenemos ovejas y tenemos llamas”. Navarro identifica la resolución de estos problemas con el trabajo del grupo VICAM: “Yo creo que como me ha tocado a mí tener que ceder en parte y aprender de la vicuña y de VICAM, se puede contagiar al resto de la gente y que deje de ser el bicho malo que nos perjudica y poder ser una fuente más productiva.”*

La fibra de camélido

Además de camélidos silvestres como la vicuña o el guanaco, existen otros domesticados como la llama cuyo manejo es similar al ganado, para impulsar la producción de estos animales y su fibra, el Estado ha desarrollado dos instrumentos de fomento. En la actualidad se encuentran en evaluación varios proyectos para generar mejoras en el sector productor de fibra fina de camélidos que serán financiados por el Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva. Se trata de dos Fondos de Innovación Tecnológica Sectorial destinados a la agroindustria y al desarrollo social que otorgarán hasta \$35.000.000 y \$8.000.000 respectivamente. Los proyectos destinados a la Agroindustria son asociaciones entre empresas y organismos del sector público con el objetivo de mejorar la calidad de la fibra de camélido doméstico a partir del desarrollo de técnicas reproductivas, mejoramiento genético e innovaciones en el manejo de rebaños; incorporar valor a las fibras a partir de mejoras en la materia prima o el producto final; permitir la trazabilidad de los productos para lograr su ingreso en los mercados internacionales y fortalecer la cadena de proveedores y generar empleos calificados.

La convocatoria Desarrollo Social tiene como fin atender problemas sociales mediante la incorporación de innovación en acciones productivas, en organización social, en el desarrollo de tecnologías para mejorar la calidad de vida de manera sostenible y fomentar la inclusión social de todos los sectores. Otorgará hasta \$8.000.000 por proyecto que mejore las actividades del ciclo productivo de los camélidos domésticos, la obtención y/o el procesamiento de la fibra, el acopio, el diseño y el tejido, el fieltro y la confección de productos.

