

UNA MIRADA RETROSPECTIVA A 53 AÑOS DE ACTIVIDAD ACADÉMICA EN CÓRDOBA

Palabras clave: bioquímica de carbohidratos; glicolípidos; gangliósidos; glicosiltransferasas; neuroquímica.
Key words: biochemistry of carbohydrates; glycolipids; gangliosides; glycosyltransferases; neurochemistry.

■ Hugo J.F. Maccioni

Centro de Investigaciones en Química Biológica de Córdoba (CIQUIBIC, UNC-CONICET), Departamento de Química Biológica Ranwel Caputto, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba.

maccioni@dqb.fcq.unc.edu.ar

■ RESUMEN

Este artículo describe sucintamente la actividad académica de Hugo J. F. Maccioni, realizada totalmente en Córdoba, Argentina. Además de una breve enumeración de las contribuciones científicas realizadas acerca del metabolismo de glicolípidos, el tráfico intracelular y organización topológica de las glicosiltransferasas involucradas en la síntesis de sus oligosacáridos, se hace alguna referencia a historias de vida personal.

■ 1.- MI INFANCIA

El compromiso de escribir la propia reseña biográfica implica un desafío a recorrer la historia de vida desde los comienzos que puede registrar nuestra memoria, y a describirla como quien lo hace objetivamente de una tercera persona. En mi caso particular, yo nací en Teodelina, Pcia de Santa Fe, en Enero de 1941. Mi padre era hijo de inmigrantes italianos oriundos de la región de Toscana, Italia y mi madre hija de inmigrantes españoles oriun-

dos de Asturias, España. Mi padre no terminó la escuela primaria pero mi madre sí, y recuerdo que ella era quien escribía las cartas para su propia familia y para los hermanos de mi padre. Según contaba mi padre, él y sus hermanos fueron criados por familias campesinas vecinas de la zona de Arroyo Seco, pues la madre había fallecido al dar a luz al menor de ellos y el padre estaba frecuentemente fuera de la casa trabajando en las cosechas. Entiendo que mi padre aprendió el oficio de foguista (el que operaba las máquinas a vapor que por esos años se utilizaban para mover otras máquinas como trilladoras en el campo, generadores de electricidad, locomotoras, etc). Nunca supe cómo fue contactado para operar una máquina de vapor en un aserradero de la localidad de Conhelo en el entonces Territorio Nacional de La Pampa. Y allá fue a parar mi familia cuando yo tenía no más de año y medio. Por esos años los árboles autóctonos de caldén eran hachados en el monte y los rollizos trasladados a los aserraderos y transformados en listones, parquets, tablas, etc.. La máquina de vapor

movía, mediante un sistema de poleas, a las diferentes sierras que hacían ese trabajo. Al cabo de unos pocos años, mi familia se mudó a la localidad de Luan Toro, continuando mi padre con la misma actividad pero ya oficiando de capataz. Estos pueblos eran vecinos y estaban al final de la línea de Ferrocarril Oeste o Sarmiento, que partía desde Buenos Aires y terminaba en la localidad de Telen, en el Oeste pampeano.

■ 2.- LA ESCUELA PRIMARIA Y SECUNDARIA

En Luan Toro cursé los primeros cuatro años de la escuela primaria. La empresa dueña del aserradero decidió instalar otro aserradero, pero de algarrobos, en la localidad de Lujan, provincia de San Luis, y allá fuimos y allí terminé la escuela primaria. El periplo de mi padre continuó, y la familia, ya con una nueva integrante, mi hermana Ana María, se trasladó a Cruz del Eje, una ciudad al norte de la Provincia de Córdoba. Yo hice mis primeros tres años del secundario como pupilo en el Colegio Domingo Savio

de Santa Rosa, La Pampa. Cuarto y quinto año de mi bachillerato los cursé en un secundario recién organizado por residentes de Capilla del Monte, en el Valle de Punilla, Córdoba, adscripto al colegio Nacional de Cosquín. Fui parte de la segunda promoción (1957) constituida por nueve alumnos, ocho varones y una mujer. El ingeniero del pueblo nos enseñaba física y matemáticas, el médico anatomía y fisiología, el cura lógica y el farmacéutico química. De éste último debo decir que el entusiasmo con que nos enseñaba química probablemente influyó en mi decisión de ir a la Ciudad de Córdoba a estudiar química. Me enteré luego que él mismo, (Lalo Urovich, aún recuerdo su nombre), al tiempo que nos enseñaba, estaba rindiendo libre química orgánica en Córdoba como estudiante en la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de Córdoba (UNC).

■ 3.- LA UNIVERSIDAD

Como muchos otros estudiantes del interior, me mudé a Córdoba a comienzos de 1958 y me inscribí en el Instituto de Ciencias Químicas de la UNC, recientemente creado como resultado de la separación de la Escuela de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Médicas. No fui un estudiante destacado pero me fue bien en términos generales. A partir de segundo año trabajé como empleado del Ministerio de Salud Pública de la Provincia, en la sección de enterobacteriaceas. En el deambular por distintas pensiones para estudiantes nos conocimos con Juan José Cazzulo, oriundo de la localidad de Las Varillas (Córdoba), con quien compartimos las mismas pensiones en los últimos años y establecimos una gran amistad que aún hoy es vigente. Juan José era un estudiante brillante (se recibió con 10 de promedio), un gran compañero y es actualmente un científi-

co ampliamente reconocido en el país e internacionalmente. También compartíamos nuestras vidas de estudiantes con Augusto Arce, que si bien vivía en Córdoba, estaba más tiempo con nosotros en la pensión que con su familia. Augusto llegó a ser Profesor Titular de la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales de la UNC y lamentablemente falleció hace unos pocos años.

■ 4.- FIN DEL CICLO UNIVERSITARIO

A fines de 1962 y comienzos de 1963 y ya con el título de bioquímico en nuestras manos nos preguntábamos, como cualquier recién egresado, qué hacer con él. Sólo sabíamos que no queríamos ejercer la bioquímica clínica como profesión, y que nos gustaba la investigación en biología, probablemente entusiasmados y estimulados por un jefe de trabajos prácticos de la cátedra de biología, el Dr. Ramón de Torres, también dedicado luego a la investigación en virología y microbiología.

Se rumoreaba por entonces que venía a Córdoba desde el exterior un destacado investigador llamado Ranwel Caputto, y los tres teníamos la esperanza que con él podíamos iniciar nuestra aventura por los caminos de la investigación. La llegada del Dr. Caputto se demoraba y hubo que tomar decisiones. Mis padres ya habían gestionado mi instalación como bioquímico clínico en Cruz del Eje y me presionaban para aprovechar la oportunidad. Pero como yo tenía trabajo y sueldo como bacteriólogo, no tenía demasiado apuro y podía esperar un poco. Cazzulo finalmente decidió ir con el Dr. Andrés O.M. Stoppani y hacer su tesis Doctoral con él en la Facultad de Medicina de la UBA. Augusto Arce se incorporó al laboratorio del Dr. Oscar Pogo, en el flamante Instituto de Biología Celular fundado y diri-

gido por el Dr. Luis M. Rinaldini recientemente regresado de Cambridge.

■ 5.- PRIMEROS PASOS EN INVESTIGACIÓN

En forma casual, a mediados de 1963 un colega que trabajaba conmigo en el Ministerio de Salud Pública pero que también se desempeñaba como Jefe de Trabajos Prácticos en la cátedra de Química Biológica de la que ya se había hecho cargo el Dr. Caputto, me comentó que estaban buscando un bacteriólogo para algo que ni él ni yo entendíamos muy bien. Hice coraje y fui a la Ciudad Universitaria a hablar con el tal Dr. Caputto. Me encontré con un señor de unos 50 años que vestía guardapolvo gris que estaba operando algo que luego me enteré era un espectrofotómetro Hilger. Pensando que estaba ante un ordenanza le pregunté dónde podía ver al Dr. Caputto. Me contestó que era él mismo y me preguntó si ¡me molestaría que habláramos mientras continuaba trabajando!

Me contó que unos investigadores habían identificado un glicolípido denominado hematósido, que contenía en su molécula un oligosacárido denominado neuraminlactosa que él con el Dr. Raúl Trucco habían aislado e identificado en la leche pocos tiempo antes, y que su interés en estos compuestos radicaba en que sospechaba que los mismos eran relevantes a funciones críticas del cerebro como memoria, aprendizaje, etc. Me dijo que si yo quería realizar una tesis solo tenía que describir la biosíntesis del tal hematósido, o sea preparar los aceptores lipídicos, los nucleótido azúcares radioactivos dadores y caracterizar la enzima en preparaciones de cerebro. Debo haber puesto cara de espanto, pues me dijo que me fuera a mi casa, que lo pensa-

ra bien, y que tomara una decisión. Pensando en el asunto y averiguando un poco más me enteré con asombro que el Dr. Caputto era Médico Cirujano egresado de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Córdoba en 1940; que había realizado su Tesis Doctoral en la cátedra de Química Biológica de la misma Facultad (1943) y que había obtenido en 1944, una beca de la Asociación Argentina para el Progreso de la Ciencia (AAPC) para trabajar en el prestigioso Laboratorio de Bioquímica de la Universidad de Cambridge, bajo la dirección de Malcolm Dixon; que de regreso al país en 1947, la AAPC le había otorgado una beca interna para asociarse con el Dr. Luis Federico Leloir en el Instituto de Fisiología de la Facultad de Medicina de la Universidad de Buenos Aires; y que con Leloir, el Dr. Raúl E. Trucco y poco después los Dres. Carlos Cardini y Alejandro Paladini, habían organizado el Instituto de Investigaciones Bioquímicas Fundación Campomar, creado a instancias de Houssay [(hoy Fundación Instituto Leloir (FIL)], en donde escribieron probablemente el capítulo más brillante de la historia de la Bioquímica Argentina, que transcurre entre 1946 y 1952, en la que, entre otros descubrimientos, se destaca el aislamiento y caracterización de la glucosa 1,6 difosfato y de la uridina difosfato glucosa (UDPG). Como es conocido, estos hallazgos abrieron las puertas al estudio de la interconversión y metabolismo de carbohidratos y merecieron el reconocimiento con el Premio Nobel de Química a Leloir en 1970.

■ 6.- LA TESIS DOCTORAL

Fue así que decidí realizar mi Tesis, empezando en Setiembre de 1963 (el laboratorio se había inaugurado el 1° de Mayo de 1963) en una época en que muchos insumos para investigación en el área no eran

comerciales (tal vez algunos lo eran, pero el catálogo de Sigma se guardaba celosamente en la oficina del Dr. Caputto). Comencé entonces a preparar diversos aceptores lipídicos (ceramida, ceramidas mono-, di-, tri-, tetra- sacáridos, los correspondientes derivados deacilados, etc.) a partir de la hidrólisis ácida controlada de gangliósidos y otros glicolípidos cerebrales, y purificarlos hasta obtenerlos en pureza suficiente para ser usados como aceptores en reacciones enzimáticas. Paralelamente hubo que sintetizar el nucleótido dador de ácido siálico (CMP-ácido siálico) radioactivo para eventualmente detectar, aislar y caracterizar el producto que hipotéticamente debía ser sintetizado por las enzimas que había que encontrar. Comencé por encargarle a un compañero estudiante de odontología oriundo de Mar del Plata (Joaquín Greco) que me trajera todos los caparazones de cangrejos que pudiera. El olor era terrible, y por un tiempo estuve segregado por mis compañeros del laboratorio (en ése entonces Alicia Rubiolo, Héctor Barra, Federico Cumar y Eduardo Lassaga). A partir de los caparazones obtuve el polisacárido quitina, polímero de la N-acetilglucosamina. Por hidrólisis ácida de esta última obtuve glucosamina, que luego acetiló y cristalicé a partir de etanol. La N-acetil- glucosamina obtenida fue epimerizada en medio alcalino a N-acetilmanosamina, que fue purificada libre de N-acetilglucosamina por cristalización fraccionada. La N-acetilmanosamina se deacetiló por hidrólisis ácida, y la manosamina resultante se acetiló nuevamente esta vez usando anhídrido acético radioactivo, para obtener N-acetilmanosamina radioactiva (^{14}C o ^3H). Esta última se utilizó para la condensación con ácido fosfoenolpirúvico catalizada por una enzima de hígado de rata, obteniéndose de esta manera ácido siálico radioactivo (Maccioni, 1968). Augusto Arce, in-

corporado al grupo desde el Instituto de Biología Celular, se encargó de la síntesis y purificación de CMP-siálico radioactivo a partir de CTP y el ácido siálico radioactivo, utilizando una preparación enzimática de glándula submaxilar de cerdo. Corría el año 1965 y éramos dos laboratorios los que teníamos los reactivos necesarios para estudiar la biosíntesis de glicolípidos: el de Saúl Roseman en John Hopkins, USA y el nuestro en Córdoba. Con muy poca diferencia de tiempo, ambos laboratorios publicamos los primeros resultados (Arce y col. 1966; Kaufman y col. 1966), y en muy pocos años, ya con la participación de otros laboratorios las vías de síntesis del oligosacárido de los gangliósidos y otros glicolípidos estuvo prácticamente resuelta. La síntesis de los sulfátidos fue también descrita por primera vez en nuestro laboratorio, utilizando los aceptores lipídicos que yo había preparado y el fosfoadenosinofosfosulfato (PAPS) radioactivo que Héctor Barra había preparado para sus estudios del metabolismo del neuraminlactosa sulfato (Cumar y col., 1968). Fueron años de mucha actividad, y personalmente muy felices porque además en 1966 contraí matrimonio con Alicia Rubiolo, quien también bajo la dirección del Dr. Caputto, estaba realizando su tesis estudiando el efecto de la estimulación sensorial sobre la biosíntesis de los gangliósidos de cerebro. Alrededor de 1966 ya éramos al menos 12 integrantes del Departamento.

Almorzábamos juntos en el laboratorio, mientras discutíamos los resultados de nuestros respectivos experimentos, o atendíamos el seminario de algún colega, o hablábamos sobre temas de organización académica. Los sábados llegábamos un poco más tarde, básicamente para discutir ideas y resultados. Por ese entonces ya me había dado cuenta también que el interés por la



Figura 1: *Integrantes del Departamento de Química Biológica en 1966. De abajo hacia arriba, fila izquierda: Eduardo Lassaga, Olga Calderón, Ricardo Duffard, Federico Cumar. Fila del centro: Rawel Caputto, Alicia Rubiolo de Maccioni, Hugo Maccioni, Juan Curtino,. Fila de la derecha: Marta Sayavedra, Rubén Conde, Héctor Barra, Augusto Arce.*

glicobiología, el estilo austero de la organización del Departamento y la dedicación a la investigación impuestos por el Dr. Caputto con sólo su ejemplo llevaba la impronta de la Fundación Campomar de la cual había sido integrante.

■ 7. LA INCURSIÓN EN NEUROQUÍMICA

Alrededor de 1977 algunos laboratorios nos preguntábamos acerca del sitio subcelular en donde los gangliósidos eran sintetizados. Los estudios que habíamos realizado

con Augusto Arce de la cinética de incorporación de azúcares radioactivos a aceptores endógenos en cerebro de rata in vivo e in vitro nos llevaron a proponer que la síntesis de gangliósidos se realizaba con la participación de un "pool" cuantitativamente pequeño de gangliósidos intermediarios de síntesis que no intercambia con el gran "pool" de productos finales (Maccioni y col. 1974). Con Carlos Landa, mi primer tesista y Silvia Defilpo la segunda, iniciamos la búsqueda de la ubicación subcelular de esos hipotéticos "pooles" de gangliósidos en células

neurales. Los primeros resultados mostraron que los intermediarios de la síntesis de gangliósidos localizaban en membranas diferentes de la membrana plasmática donde se encontraba el depósito cuantitativamente más importante de estos lípidos (Maccioni y col. 1978). Estudios en otros laboratorios y en tejidos no neurales realizados en la misma década ya mostraban que el complejo de Golgi era el sitio de glicosilación terminal de glicoconjugados. Para el caso de las células neuronales pudimos luego demostrar que la síntesis ocurría en el soma neuronal y desde allí los gangliósidos eran transportados en la fase rápida del transporte axonal hacia la membrana plasmática de los terminales nerviosos, (Landa y col., 1979).

■ 8.- LA INTRODUCCIÓN A LA BIOLOGÍA CELULAR

A fines de la década de 1970 con Pedro Panzetta iniciamos estudios acerca de la regulación de la síntesis de gangliósidos en el sistema nervioso central de aves y mamíferos en desarrollo, iniciando los primeros pasos en el uso de cultivos celulares y técnicas de microscopía de fluorescencia. Pudimos establecer (Panzetta y col., 1980; Landa y col., 1984) que en estadios ontogénicos tempranos las células neurales en activa proliferación expresan gangliósidos con cadenas oligosacáridas cortas (i.e. GD3), mientras que en estadios ontogénicos más tardíos, caracterizados por el cese de la proliferación y una masiva diferenciación de las células neurales, el patrón de expresión era dominado por gangliósidos con cadenas oligosacáridas más complejas. Estas transiciones iban acompañadas por cambios en la actividad de algunas enzimas claves que actúan sobre un precursor común a nivel de los puntos de ramificación de las vías de biosíntesis. Encontramos que la re-

lación de actividad de estas enzimas cambia durante el desarrollo neural y como consecuencia cambia el patrón de expresión de estos glicolípidos en la superficie celular. Examinando la expresión de gangliósidos simples y complejos por inmunocitoquímica en cultivos organotípicos y de células dispersas de retina de pollo pudimos demostrar que la aparición de gangliósidos complejos ocurría preferentemente en células neuronales, mientras que las células gliales mantenían la expresión de gangliósidos simples (Gravotta y col. 1989). Pudimos luego demostrar *in vitro* (Maxzud y col. 1995) que efectivamente dos enzimas, una sialil y una N-acetilgalactosaminiltransferasa compiten por el uso del precursor común GM3. Esta regulación resultó mucho más compleja y dependiente, no solo de los niveles relativos de actividad, sino también por la saturación relativa con el nucleótido dador, cuya concentración resultó también controlada por nucleótido azúcar pirofosfatasas (Martina y col. 1995)

■ 9.- LA INCURSIÓN POR LA BIOLOGÍA MOLECULAR

Alrededor de 1985 nos dábamos cuenta que la irrupción de la biología molecular era inevitable, y que debíamos implementar esas tecnologías en el laboratorio si queríamos continuar siendo competitivos y proveer de una base mecanística a los estudios de metabolismo que veníamos haciendo. Con Sonia Cortassa intentamos purificar y caracterizar una enzima de la vía de síntesis de los glicolípidos, la N-acetilgalactosaminil transferasa, con la esperanza de preparar un anticuerpo u obtener una secuencia amino acídica que nos permitiera iniciar estudios de biología molecular (Cortassa y Maccioni, 1989) pero fue prácticamente imposible por ser una proteína de membrana y presente en muy baja

cantidad. Fue con Alberto Rosa, que había finalizado la Maestría en Biología Molecular y Microbiología organizada por Héctor Torres desde el INGEBI, y la inmediata posterior incorporación de Malena Álvarez, que iniciamos una línea de trabajo que nos hiciera transitar la tecnología del DNA recombinante y nos permitiera subir al tren de la biología molecular que ya había irrumpido notoriamente en el campo de la bioquímica. La idea era iniciar un proyecto original pero desarrollable con esas tecnologías y la decisión fue tratar de clonar el gen de la proteína clatrina, constituyente de las vesículas cubiertas, pues según los resultados obtenidos con Diego Gravotta resultaba posible que estuviera involucrada en el transporte axonal de vesículas ricas en gangliósidos (Gravotta y Maccioni 1985). Pero a poco de iniciado el proyecto Payne y Schekman (1985) publicaron el clonado de la clatrina y decidimos dirigir nuestros esfuerzos a otra proteína de 59kDa que co-purificaba con clatrina, y que manifestaba propiedades mecanoquímicas similares a clatrina, por lo que parecía también muy interesante y que denominamos P59Nc (Rosa y col. 1990). La aventura culminó con el clonado y secuenciado del gen P59Nc que resultó ser la piruvato decarboxilasa de *N. crassa* (Alvarez y col. 1993). Esto fue un paréntesis en la línea fundamental de la biología de glicoesfingolípidos, a la cual, como se leerá a continuación, regresamos nuevamente pero ya más capacitados tecnológicamente para indagar con mayor profundidad acerca de las bases celulares y moleculares de la regulación de la expresión de éstos lípidos durante el desarrollo ontogénico del sistema nervioso central.

■ 10.- REGULACIÓN POR DESARROLLO DE GLICOSILTRANSFERASAS.

Alrededor de 1994 Jose L. Daniotti regresó al grupo luego de una estadía en el exterior y comenzamos a estudiar la expresión y regulación por desarrollo de los genes codificantes de gangliósido glicosiltransferasas (Raimondi y col., 2004; Daniotti y col., 1997, 1999, 2000). Generamos una batería de células que expresaban establemente cada una de las distintas glicosiltransferasas y por lo tanto expresaban determinados patrones de glicolípidos, que fueron muy útiles para completar los estudios metabólicos (Maccioni y col., 1999). También comenzamos a indagar acerca de los determinantes moleculares que definían la localización de estas glicosiltransferasas en el Golgi y en determinados subcompartimentos de esta organela. Habíamos ya elaborado una batería de constructos fusionados a variantes espectrales de la proteína fluorescente verde y sabíamos que los determinantes de localización en Golgi de varias glicosiltransferasas residían en el dominio N-terminal constituido por un segmento citoplásmico de unos pocos aminoácidos, una región transmembrana y un pequeño segmento intraluminal (Martina y col., 1998; Ferrari y col., 2012). Paralelamente, con Victor Rosales Fritz y luego con Andrea Uliana comenzamos a mapear el sitio de síntesis de los gangliósidos simples y complejos en los subcompartimentos del complejo de Golgi (Rosales Fritz y col., 1996). La adquisición de un microscopio confocal en 2002 con un subsidio de Fundación Antorchas suplementado con aportes provenientes de sendos subsidios del Howard Hughes Medical Institute (USA) a Alfredo Cáceres y a mí, y de la J.S. McDonnell Foundation a Beatriz Caputto nos permitió acceder a técnicas modernas de

microscopía de fluorescencia que arrojaron luz sobre la dinámica del transporte intracelular y organización topológica de las glicosiltransferasas de gangliósidos en el complejo de Golgi (Uliana et al., 2006a, b) y sobre el tráfico entre el retículo endoplásmico y el complejo de Golgi de las mismas.

Con la participación de Claudio G. Giraudo pudimos demostrar experimentalmente que las glicosiltransferasas de gangliósidos se organizan bajo la forma de complejos multienzimáticos en las membranas del complejo de Golgi, de forma tal que el producto de reacción de una de ellas es utilizado como sustrato de la siguiente en la vía de síntesis, sin pasar a una forma soluble ni depender de la probabilidad de choque para ser sustrato (Giraudo y col., 2001, 2003a). Mostramos también que el transporte de estas enzimas desde el retículo endoplásmico hasta el complejo de Golgi se iniciaba por interacciones específicas entre secuencias amino acídicas dibásicas en el tallo citoplasmático de la enzima y una GTPasa de bajo peso molecular (Sar1) que inicia la polimerización de las proteínas de cubierta de las vesículas COPII en los sitios de exportación de proteínas desde el retículo endoplásmico hacia distintas estaciones de la vía secretoria (Giraudo y col., 2003b). Por docking computacional identificamos los amino ácidos en Sar1 involucrados en la interacción y mostramos que la sustitución por otros amino ácidos abolía la interacción (Quintero y col., 2010; Maccioni y col., 2011a,b).

■ 11.-EL ÚLTIMO PROYECTO.

El ocaso de mi carrera me encontró tratando de responder a una pregunta que nos planteamos desde hace tiempo en el grupo y que fue siempre elusiva: tratábamos de co-

nocer qué determinantes moleculares hacen que estas glicosiltransferasas, cuando abandonan el sitio de síntesis en el retículo endoplásmico para ser transportadas a lo largo de la vía secretoria junto con otras proteínas de membrana resulten retenidas en el complejo de Golgi, mientras que otras con similar topología continúan su viaje hasta la membrana plasmática. Con Rodrigo Quiroga, mi último tesista, conjuntamente con el grupo de Javier Valdez concluimos que las propiedades fisicoquímicas de los segmentos transmembrana (longitud, volumen e hidrofobicidad de los amino ácidos de cada hemicapa membranal, etc.) actúan como determinantes de retención en el Golgi, pues sus reemplazos hacen que continúen el camino hacia la membrana plasmática (Quiroga y col., 2013). Como siempre ocurre en ciencia, estos hallazgos dejaron abierto el interrogante acerca de cómo estas propiedades de los segmentos transmembrana compatibilizan con las propiedades físico químicas (composición, curvatura, etc.) de la membrana lipídica para decidir por retención en el Golgi o continuación del viaje hacia la membrana plasmática. Seguramente los jóvenes investigadores que me suceden irán resolviendo este interrogante básico de la biología celular.

■ 12 BALANCE CIENTÍFICO

Mirando retrospectivamente, y en la forma más objetiva posible, observo que a lo largo del camino recorrido durante estos 53 años, siempre trabajando en Córdoba, algunos logros puedo mencionar, aunque insisto no debería ser yo quien los considere dignos de mención. Como uno de los colaboradores iniciales del Dr. Caputto en la fundación del Departamento de Química Biológica me siento muy gratificado al ver la cantidad de jóvenes entu-

siastas que lo integran en la actualidad, y la calidad de la ciencia que practican.

A nivel internacional, mis contribuciones científicas han sido bien receptadas por mis pares; sólo he listado algunas representativas del rol de cada discípulo. Mis proyectos han sido financiados por Instituciones reconocidas de promoción científica tales como Comunidad Económica Europea (1990/1991), The Council For Tobacco Research, USA, (1995-1997), Howard Hughes Medical Institute USA, (1997-2007), Mizutani Foundation For Glycoscience (2001), Fundación Antorchas (2002, 2004).

A nivel nacional he contribuido a la organización de la Facultad de Ciencias Químicas de la UNC actuando como Vice-Decano Normalizador (1983-1985), y también a la representación regional del CONICET en Córdoba como organizador del Centro Científico Tecnológico Córdoba, (CCT-CONICET) (Director electo, 2007-2011).

En mi lugar de trabajo CIQUIBIC y Departamento de Química Biológica he contribuido al mejoramiento de la enseñanza de grado y pos grado dedicando mucho de mi tiempo a la enseñanza de Biología Celular y Molecular, y también a mejorar la calidad de la ciencia que se ejecuta gestionando administración, adquisición de nuevos instrumentos que ayuden a producir ciencia competitiva y procurando infraestructura edilicia mas adecuada que la que disponemos actualmente. Mis pares me han distinguido al elegirme Presidente de la Sociedad Argentina de Investigación Bioquímica y Biología Molecular (SAIB,1988-1989), Presidente de la Sociedad Argentina de Neuroquímica (SAN 1993-1994, hoy Sociedad Argentina de Investigación en Neurociencias), y actualmente



Figura 2: *Integrantes del Departamento de Química Biológica- CIQUIBIC (UNC-CONICET) en el año 2013.*

Presidente de la Pan American Association for Biochemistry and Molecular Biology (PABMB, 2016-2017). El Premio Houssay Trayectoria 2012 del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación Productiva de la Nación es un galardón que aprecio particularmente, como así también el haber sido designado Académico Titular (actualmente Vicepresidente) de la Academia Nacional de Ciencias de Argentina (1995), Académico Correspondiente de la Academia Nacional de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales (2005), Académico y ExPresidente de la Academia de Ciencias Médicas de Córdoba (2009), Académico de la Academia de Ciencias para el Mundo en Desarrollo (TWAS, 2010) y de la Academia de Ciencias de América Latina (ACAL, 2017).

Mis discípulos, a quienes he mencionado a lo largo de este artículo, en su gran mayoría han nutri-

do el sistema científico-académico-tecnológico nacional, y algunos el internacional. Verlos en la actualidad trabajar activamente en distintas áreas del quehacer académico me hace sentir por un lado orgulloso de ellos, y por otro agradecido pues sus esfuerzos, dedicación y creatividad han sido en última instancia la razón de que yo haya sido considerado merecedor de la invitación a escribir esta reseña.

■ 13.-BALANCE FAMILIAR.

He tenido la fortuna de compartir mi vida con dos mujeres maravillosas. Con Alicia, mi primera esposa y colega, compartimos 14 años de matrimonio inolvidables y tuvimos 4 hijos. Un día de Mayo de 1980 falleció repentinamente, quedando yo (39) con mis hijos, Mariana (12), Laura (10), Martín (8) y Cecilia (5). Mi vida personal, complicada, se encaminó nuevamente al contraer

matrimonio en 1983 con Beatriz Caputto, mi actual esposa. Betty es hija del Dr. Caputto y en ese momento era becaria pos-doctoral de Alicia. Su bondad, su cariño, coraje y dedicación a la familia, hicieron posible el rearmado familiar y el nuevo matrimonio agregó dos hijas más a la prole, Franca y Davina.

Al describir el estado actual de estos chicos, y el mío propio, no puedo dejar de agradecer a Betty por su especial protagonismo en reconstruir un ambiente familiar propicio para nuestras respectivas realizaciones. También destaco la generosidad de este país para educar a quienes ponen esfuerzo de su parte. Nuestros hijos tienen sus vidas organizadas: Mariana es inmunóloga, Profesora de la Facultad de Ciencias Químicas y Laura es Profesora en la Facultad de Ciencias de la Información en la Universidad Nacional de Córdoba y especialista en estudios

culturales; ambas son Investigadoras de CONICET. Martín es abogado y Cecilia es arquitecta. Franca acaba de finalizar su Tesis de Doctorado en la Facultad de Letras de la UNC con Beca de CONICET y Davina acaba de obtener su título de Licenciada en Historia, todos en la UNC.

De los mayores cosechamos 12 nietos, y de las menores aún estamos esperando. Todos nos visitan prácticamente todos los Sábados o Domingos, y es un placer para mí y para Betty cocinar para ellos y escucharlos conversar y discutir acaloradamente sobre temas de actualidad durante el almuerzo. Es muy gratificante para nosotros transitar el caso percibiendo el cariño y el respeto de todos ellos.

■ BIBLIOGRAFIA

- Alvarez M.E., Rosa A.L., Temporini E., Wolstenholm A., Panzetta G., Patrino L. and Maccioni H.J.F (1993) *The 59kDa polypeptide of 8-10 nm cytoplasmic filaments in N.crassa is pyruvate decarboxylase*. *Gene* **130**, 253-258.
- Arce A., Maccioni H.J.F., and Caputto R. (1966) *Enzymic binding of sialyl groups to ganglioside derivatives by preparations from the brain of young rat*. *Arch. Biochem. Biophys.* **116**, 52-58.
- Cortassa S. and Maccioni H.J.F (1989) *Effect of phospholipids on the activity of sialosyl-lactosyl ceramide (GM3): N-acetylgalactosaminyl transferase from chick embryo brain*. *Mol. Cell. Biochem.* **85**, 9-17.
- Cumar F.A., Barra H.S., Maccioni H.J.F. and Caputto R. (1968) *Sulfation of glycosphingolipids and related carbohydrates by brain preparation from young rat*. *J. Biol. Chem.* **243**, 3807-3816.
- Daniotti, J. L., Rosales Fritz, V., Kunda, P., Nishi, T. and Maccioni, H.J.F. (1997) *Cloning, Characterization and Developmental Expression of α 2,8 sialyltransferase Gene in Chick Brain and Retina*. *Int. J. Devl. Neurosc.* **15**, 767-776.
- Daniotti J.L., Martina J.A., Zurita A.R. and Maccioni H.J. (1999). *Mouse β 1,3-galactosyltransferase (GA1/GM1/GD1b synthase): cDNA sequence, protein characterization and tissue expression*. *J. Neurosc. Res.* **58**, 318-327.
- Daniotti J.L., Martina J.A. Giraud C., Zurita A. and Maccioni, H.J.F. (2000) *GM3: α 2,8 Sialyltransferase (GD3 Synthase): Protein Characterization and Sub-Golgi location in CHO-K1 Cells*. *J. Neurochem*, **74**, 1711-1720.
- Ferrari, M.L., Gomez G.A. and Maccioni, H.J. (2012) *Spatial organization and stoichiometry of N-terminal domain-mediated glycosyltransferase complexes in Golgi membranes determined by FRET microscopy*. *Neurochem Res.* **37**, 1325-1334.
- Giraud C.G., Daniotti J.L. and Maccioni H.J.F (2001) *Physical and functional association of glycolipid N-acetyl-galactosaminyl and galactosyl transferases in the Golgi apparatus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **98**, 1625-1630.
- Giraud, C.G. and Maccioni H.J.F. (2003a) *Ganglioside glycosyltransferases organize in distinct multienzyme complexes in CHO-K1 cells*. *J. Biol. Chem.* **278**, 40262-40271
- Giraud, C.G. and Maccioni, H.J.F. (2003b) *ER export of glycosyltransferases depends on interaction of a cytoplasmic di-basic motif with Sar1*. *Mol. Biol. Cell* **14**, 3753-3766.
- Gravotta D. and Maccioni H.J.F (1985) *Gangliosides and sialosylglycoproteins in coated vesicles from brain*. *Biochem. J.* **225**, 713-721.
- Gravotta D., Landa C.A., Panzetta P. and Maccioni H.J.F (1989) *In vivo and In vitro expression of gangliosides in chick retina cells*. *J. Neurochem.* **52**, 768-776.
- Kaufman, B., Basu, S. And Roseman, S. (1966) *Inborn Disorders of Sphingolipid Metabolism*, Pergamon Press, Oxford & New York, 193-197,
- Landa C.A., Maccioni H.J.F. and Caputto R. (1979) *The site of synthesis of gangliosides in the chick optic system*. *J. Neurochem.* **33**, 825-838.
- Landa C.A., Panzetta P. and Maccioni H.J.F. (1984) *Biosynthesis of gangliosides in cultured chick embryo retina*. *Develop. Brain Res.* **14**, 83-92
- Maccioni, H.J.F. (1968) *Preparación de Hexosilceramidas y Hexosilceramidas y sus aplicaciones en el estudio del metabolismo de glicoesfingolípidos*. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Córdoba. Director: Prof. Dr. Ranwel Caputto.
- Maccioni H.J.F., Defilpo S.S., Landa C.A. and Caputto R (1978) *The biosynthesis of brain gangliosides. Ganglioside glycosylating activity in rat brain neuronal perikarya fraction*. *Biochem. J.* **174**, 673.
- Maccioni H.J.F., Arce A., Landa C.A. and Caputto R. (1974) *Rat brain microsomal gangliosides. Accessibility to a neuraminidase preparation and the possible existence of different pools in relation to their biosynthesis*. *Biochem. J.* **138**, 291-298.
- Maccioni H.J.F., Daniotti J.L. and Martina J.A. (1999) *Organization of ganglioside synthesis in the Golgi apparatus*. *Biochim. Biophys. Acta* **1437**, 101-118.

Maccioni, H.J.F., Quiroga, R., Ferrari, M.L. (2011a) *Cellular and molecular biology of glycosphingolipid glycosylation* *J. Neurochem.* **117**, 589-602

Maccioni, H.J.F., Quiroga, R., Spessott, W. (2011b) *Organization of the synthesis of glycolipid oligosaccharides in the Golgi complex* *FEBS Letters* **585**, 1691-1698.

Martina, J. A., Daniotti J, L. and Maccioni. H. J.F. (1995) *A UDP-sugar pyrophosphatase is developmentally regulated in rat retina.* *J. Neurochem.* **64**, 1274-1280.

Martina, J. A., Daniotti J, L. and Maccioni. H. J.F. (1998) *Influence of N-glycosylation and N-glycan trimming on the activity and intracellular traffic of GD3 synthase (ST8Sia I).* *J. Biol. Chem.* **273**, 3725-3731

Maxzud K., Daniotti J.L. and Maccioni H.J.F (1995) *Functional coupling of glycosyl transfer steps for synthesis of gangliosides in Golgi membranes from neural retina cells.* *J. Biol. Chem.* **270**, 20207-20214.

Panzetta P., Maccioni H.J.F. and Caputto R. (1980). *Synthesis of retinal gangliosides during chick embryonic development".* *J. Neurochem.* **35**, 100-108.

Panzetta P., Gravotta D. and Maccioni H.J.F. (1987) *Biosynthesis and expression of gangliosides during differentiation of chick embryo retina cells."* *J. Neurochem.* **49**, 1763-1771.

Payne G.S. and Schekman R. (1985) *A test of clathrin function in protein secretion and cell growth.* *Science* **230**, 1009-1014.

Quintero CA, Giraudo CG, Villareal M, Montich G, Maccioni HJ. (2010) *Identification of a site in Sar1*

involved in the interaction with the cytoplasmic tail of glycolipid glycosyltransferases. *J. Biol. Chem* **285**, 30340-30346.

Quiroga R., Trenchi A., Gozalez Montoro A., Valdez Taubas J. and Maccioni H.J.F. (2013) *Short transmembrane domains with high-volume cytoplasmic halves determine retention of Type II membrane proteins in the Golgi complex.* *J. Cell Sci.* **126**, 5344-5349.

Raimondi LP, Daniotti JL, Maccioni HJ (2004) *ETS-1 transcription factor activates the expression of mouse UDP-Gal:GA2/GM2/GD2/GT2 galactosyltransferase gene.* *FEBS Lett.* **576**, 487-491.

Rosa A.L., Alvarez, M.E., Lawson, D. and Maccioni, H.J.F (1990) *A polypeptide of 59 kDa is associated with bundles of cytoplasmic fila-*

ments in N. Crassa. *Biochem. J.* **268**, 649-655,

Rosales Fritz V., Maxzud K. and Maccioni H.J.F (1996) *GT3 synthesis in the proximal Golgi occurs in a subcompartment different from those of GD3 and GM3.* *J. Neurochem.* **67**, 1393-1400.

Uliana A., Giraudo C.G. and Maccioni, H.J.F (2006a) *Cytoplasmic Tails of SialT2 and GalNAcT Impose Their Respective Proximal and Distal Golgi Localization.* *Traffic* **7**, 604-612.

Uliana A. S., Crespo, P. M., Martina, J. A., Daniotti, J. L. and Maccioni, H. J.F. (2006b) *Modulation of GalT1 And SialT1 Sub-Golgi Localization by SialT2 Expression Reveals an Organellar Level Of Glycolipid Synthesis Control.* *J. Biol. Chem.*, **281**, 32852-32860.



Fotografía reciente tomada en el Patio de la Palmeras, Pabellón Argentina, Universidad Nacional de Córdoba: María Elena Alvarez (izquierda), Hugo J. F. Maccioni (centro) y Jose Luis Daniotti (derecha).

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 llevo 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 élite 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 Yacobaccio, zoológico e 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 sogá 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 Yacobaccio. 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.

