

JUGANDO CON EL MICROCOSMOS

Palabras clave: Neurobiología; neurotransmisión sináptica; carrera científica; microscopía.
Key words: Neurobiology; synaptic neurotransmission; scientific career; microscopy.

■ Francisco José Barrantes

Investigador Superior Emérito (2018), contratado; Profesor Titular, Fac. Ciencias Médicas. Laboratorio de Neurobiología Molecular, Instituto de Investigaciones Biomédicas (BIOMED) UCA-CONICET, Buenos Aires, Argentina.

rtfjb1@gmail.com

■ FAMILIA E INFANCIA

Nací en la ciudad de Buenos Aires. Mis padres, Guillermo Horacio y Dolores, también eran porteños, hijos de salteños y de inmigrantes españoles, respectivamente. Mi padre, toco-ginecólogo, y mi madre, obstetra, se conocieron en el Hospital Alvear. Desde muy temprano asumí con total naturalidad el relato reiterado que fuese mi padre quien me había traído al mundo, y lo concerniente a los nacimientos fue parte integral de la infancia de mis hermanos Ana María y Guillermo y de la mía. Nuestra infancia fue feliz. Mis primeros recuerdos nítidos -posiblemente de los 4 ó 5 años- refieren a la “casa de la abuela”, jugando a mezclar colores -anilinas Colibrí disueltas en agua. Esa química lúdica debe haber dejado una impronta muy fuerte, pues aún hoy sigo jugando con soluciones coloreadas (fluorescentes) en el laboratorio...

Mis primos mayores Hugo y Mecha fueron los principales estimuladores de la imaginación de Ana María y mía. Posiblemente tendría 5 años cuando Hugo, maestro primario, me hizo dirigir una orquesta infantil en su escuela; recuerdo la felicidad total de estar disfrazado de aviador en una carretilla con un pe-

queño ventilador como hélice. Las memorias se van haciendo más claras al recordar las interminables horas jugando con mis hermanos a lo hora de la siesta en el caluroso verano porteño, que se poblaba de mariposas; las fogatas de San Pedro y San Pablo, mis tías llevándonos al cine en el centro, o las “masas” que traían los domingos de la Confitería del Molino, todo enmarcado en un Buenos Aires notablemente -casi cabría decir sideralmente- más limpio en el suelo y el aire, con cadencia de tranvía. Mi abuelo paterno, Ernesto, llegó a ser tesorero del Consejo Nacional de Educación. Pasé de llamarle “Dios” en mi primera infancia (su primer nombre era Jesús), a “abuelo galera” -calzaba sombrero bombín negro.

Comencé mi educación primaria en la escuela pública que estaba a tres cuadras de mi casa, en la calle Conde, pero al iniciar primer grado superior tuve cuanta enfermedad infecto-contagiosa infantil pueda soportarse en un intervalo de pocos meses, y mis padres, en una decisión posiblemente criticable por cualquier psicólogo contemporáneo, entendieron que lo más apropiado para mí era un período de “vida de campo”. Esta se concretó con mi tía paterna María Teresa

y su esposo, Arturo, en Rosario de Lerma, Salta, la tierra de mis ancestros, y se extendió por varios meses. No me arrepiento de la pausa de “porteñidad” por el tiempo vivido en la tierra de mi bisabuelo Pancho, a quien mi madre había prometido que yo llevaría su nombre: montar a caballo en pelo, enlazar, desayunar sopa de mazamorra -a veces con ají quitucho- haber establecido tempranamente un vínculo irreversible con los cerros multicolores, y grabar el inconfundible aroma de la hoja de tabaco secándose en las gigantescas estufas...

Cuando volví a Buenos Aires concurrí por dos años a la Escuela Argentina Modelo, de la que mi recuerdo más imborrable es de mi compañero de clases Robertito Arlt, hijo del escritor homónimo. La última parte de mi escolaridad primaria transcurrió en el *Buenos Aires English High School*, en la arbolada calle Melián, una de las más lindas de Buenos Aires. En ese entonces mi padre ya trabajaba en el Servicio de Obstetricia del Hospital Pirovano, de cual asumiría la jefatura más tarde. Pero no fue la cercanía geográfica sino la firme convicción de mi madre acerca del valor de los idiomas, la que motivó el cambio por un colegio bilingüe. Ella era una do-

tada natural, con enorme facilidad para las lenguas. No sólo aprendí el inglés en los años de plasticidad neuronal, sino que, siguiendo la tradición de esa escuela, y a instancias de Cubelli y Camardon, profesores de actividad física, aprendí a jugar al rugby (con la camiseta de Alumni) y a nadar. El BAEHS fue fundado por Alexander Watson Hutton en 1884, maestro primario escocés, más conocido por haber introducido el fútbol en la Argentina...

Un hecho trascendente ocurrió durante mi último año en la escuela primaria. Mi maestro de 6º grado, el Sr. Horacio Loureiro, trabajaba por las tardes en una imprenta. Un día faltó, algo totalmente impensable. Había sufrido en la imprenta una lesión muy grave en su mano diestra, con pérdida de la función. Cuando varias semanas después regresó, me propuso un trueque sorprendente: que yo le enseñara a escribir con la mano izquierda, pero a cambio yo debía aprender a usar la derecha. Fue una enseñanza extraordinaria de coraje ante la adversidad, que me dejó una impronta indeleble.

Durante casi toda mi escolaridad primaria no tuvimos un aparato de televisión, y pasábamos gran parte del tiempo leyendo, jugando al fútbol, haciendo trucos de magia, u organizando el "Dorado", club infantil de nuestra creación. La magia jugó un papel importante en mi infancia. Cuando pude viajar solo por la ciudad, una de mis salidas favoritas era ir a un negocio de artículos de magia en la Avenida de Mayo, donde el mago Alex Mir (ya adolescente me enteré que se llamaba Alejandro Miroli) enseñaba trucos relativamente sencillos con naipes, pañuelos y -el más sofisticado que incorporé a mi repertorio- con anillos metálicos, que aun hoy conservo.

La lectura de libros era, sin du-

das, la actividad más importante de diversión y aprendizaje. Y mi padre fuente inagotable de material de lectura. Él era un lector obsesivo, y su biblioteca crecía permanentemente; los libreros le preparaban con antelación ejemplares del repertorio de su predilección, filosofía e historia. Su ejemplo obviamente incidió sobre nuestra relación con los libros, y además de los infaltables de la colección Robin Hood, el Tesoro de la Juventud, o el Tarzán del Burroughs, pasábamos horas absortos, a veces terminando con ojos enrojecidos, devorando las historias del explorador submarino Jacques-Yves Cousteau o del detective Sexton Blake, a quien suplanté más tarde por el más grande de todos, Sherlock Holmes.

■ JUGANDO CON LA CIENCIA Y MI PRIMER MAESTRO, PEDRO ERNESTO VALENTINI

Mi primer contacto con la ciencia se produjo en los últimos años de la escuela primaria. La vida profesional de mis padres fue el catalizador de este inicio. No puedo reconstruir con precisión el cómo, pero me enteré de la existencia de los análisis clínicos, posiblemente viendo los resultados impresos sobre el escritorio de mis padres. Lo cierto es que en algún momento cuanto familiar se cruzara por delante terminaba siendo proveedor de muestra para un "análisis de orina". El *armamentarium* de mi "laboratorio" constaba de tiras de papel de tornasol, para medir el pH, y una probeta sin graduar, combinada con la gran pieza instrumental: un densitómetro (!). Obviamente, no era mucho lo que constaba en el informe de cada análisis, que yo redactaba en recetarios de mis padres, pero mi clientela profesional no se quejaba...

Mi carrera "proto-científica" tuvo un vuelco importante cuando mis

padres atendieron el primer parto de la Dra. Scalamandré de Valentini, bioquímica clínica. Al comentarle mis padres de mi "hobby" surgió la invitación a concurrir a un verdadero laboratorio de análisis clínicos, el de ella y su marido, el Dr. Pedro Ernesto Valentini. Aceptaron, y así lo hice por varios meses. Mi interés por el análisis de fluidos pasó de su etapa infantil a la infanto-juvenil cuando vi en acción el impecable microscopio Leitz de Valentini. Fue un flechazo temprano e irreversible con la microscopía. Y Valentini mi primer maestro de ciencias, con el que aprendí a hacer recuentos globulares, frotis sanguíneos, a teñirlos con hematoxilina-eosina, y a distinguir los distintos tipos de leucocitos. Mis padres fueron condescendientes con mi deslumbramiento por la microscopía. Mi tío Luis era gerente en la casa central de la óptica Lutz Ferrando, en la calle Florida, de modo que resultara relativamente natural que me regalaran un pequeño microscopio, que de ningún modo podía emular al reluciente bronce del de Valentini...

■ ADOLESCENCIA

Concurrí al Colegio Nacional Julio A. Roca, en Amenábar y Pampa. Guardo gratos recuerdos de mis profesores, aunque el heterogéneo conjunto de docentes estaba formado mayoritariamente por abogados, médicos, y profesionales que impartían la docencia de historia, anatomía, filosofía o psicología en calidad de *amateurs*, salvo las contadas excepciones -los profesores de lenguas y en algunos casos, los de educación física. El nivel de enseñanza de esa época era, sin embargo, decididamente bueno. Quienes cursamos esos años juntos trabajamos una amistad que nos ha reunido en cenas de camaradería anuales ininterrumpidamente desde que egresáramos, manteniendo viva la etapa

juvenil.

Además de las amistades, lo más destacado que me sucedió en mi paso por el Nacional Roca fue haber tenido como profesor de literatura en cuarto año a don Osvaldo Horacio Dondo. Además de su condición de profesor de esta asignatura, su modestia hizo que pocos nos enteráramos que era director de una biblioteca pública; aún menos conocida era su condición de escritor y poeta. Dondo nos estimuló a leer literatura argentina contemporánea, pero más importante aún fue haberme inducido a conocer a su par -también director de biblioteca pública- Jorge Luis Borges... Gracias a Dondo me introduje en el fantástico mundo de Borges, en una iniciática incursión juvenil sobre la inmortalidad, el tiempo, Swedenborg, y buscarlos en los instrumentos que paradójicamente se iban escapando de su mundo, al menos el visual: los libros... El Borges que conocí posiblemente no pasaría de los 60 años, pero, ya casi totalmente ciego, debía recurrir a su increíble memoria para recitar, con su característica cadencia oral -frases breves, con sonidos que a veces parecían absorbidos más que emitidos- poesía escandinava antigua, o comentarios sobre su admirados Poe, Whitman, o Faulkner.

Durante mi adolescencia practiqué deportes regularmente. Pero fue casi por casualidad que conocí a Leopoldo Baltasar Cañizal, profesor recién egresado del Instituto de Educación Física, quien me introdujo a la gimnasia en aparatos. Tras dos o tres años, la práctica recreativa, que me apasionaba, se transformó en competitiva, y más tarde, ya en la universidad, tuvo un giro adicional, ya que actué como juez en competencias e hice de intérprete (en inglés) cuando gimnastas japoneses visitaron el Instituto de

Educación Física. Me adelanto temporalmente en este párrafo, para relatar una anécdota que me sucediera ya en 4º año de Medicina, cuando cursaba Clínica Médica. Me tocó palpar el abdomen de un paciente en el Hospital de Clínicas, ante la mirada del profesor titular, Gotta. Inesperadamente, el paciente hizo una mueca de molestia y emitió un quejido, a lo cual Gotta exclamó: "¡Qué sucede??!". "La mano, la mano" se quejó el paciente, señalándome como el culpable... Yo pegué un salto hacia atrás. Mi mano, con llagas por la práctica de la barra horizontal, estaba cubierta con gasas y cinta adhesiva que raspaban el abdomen del paciente, y peor aún, generaron la mirada fulminante de Gotta. ¡Trágame tierra! Aún hoy me aterro al acordarme...

■ LA CARRERA DE MEDICINA Y MIS "DIVERTIMENTOS COLATERALES"

Mientras cursaba el quinto año de la secundaria hacía lo propio con el curso de ingreso a Medicina

en la UBA. El comienzo de mi vida universitaria no fue fácil. Lo recuerdo como una transición del risueño mundo del colegio secundario a otro más anónimo y duro. Heredé la calota craneana que mi padre utilizara cuando él cursara *las Anatomías*, descriptiva en primer año y topográfica en segundo. Una de mis primeras tareas, antes que empezaran las clases, fue volver a pintar con esmaltes rojo y azul las inserciones musculares en el cráneo que mi padre había delineado meticulosamente siguiendo a Testut. Buena parte de mi generación estudiaba por el "Testucito", versión apocopada de los cuatro tomos, pero fue inevitable que yo estudiase la versión completa, enciclopédica....

Mi primer examen de la carrera, precisamente el de Anatomía, no fue todo lo bueno que prometía el tiempo y profundidad que le dedicara junto con mis compañeros de estudio, Andrés Schlichter, hoy cardiólogo infantil, y Carlos Pochat, cirujano de tórax. Los tres estudiamos juntos toda la carrera, y preparamos

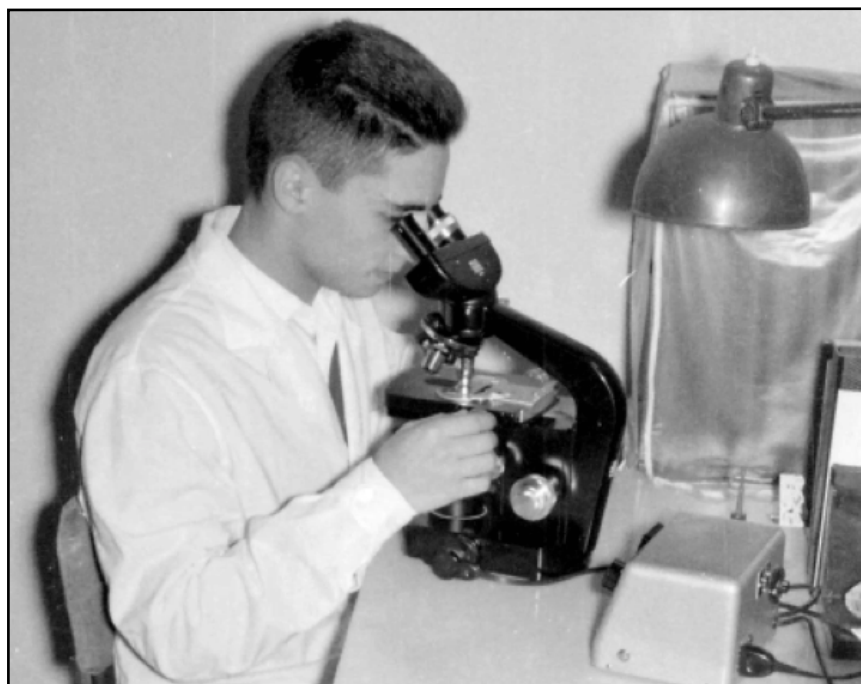


Figura 1. Estudiante de primer año de Medicina, 1963..

y rendimos casi todos los exámenes en equipo, logros no menores... Afortunadamente, pude compensar mi rendimiento sub-óptimo en anatomía macroscópica en breve, cuando rendí Histología un 30 de diciembre. Me tomó examen el profesor titular, Eduardo De Robertis, quien me invitó a presentarme al concurso de ayudantes de cátedra.

Así fue como mi segundo año como estudiante de medicina transcurrió coincidentemente con la iniciación de mi docencia universitaria, cuatro tardes por semana, como "ayudante de segunda" en la primera cátedra de Histología, Citología y Embriología, primero ad honorem, y luego rentado, iniciando así el contacto con quien sería mi director de tesis doctoral, beca del CONICET, y mi maestro, Eduardo Diego Patricio De Robertis, con quien compartí una década. Compartí la ayudantía con brillantes futuros médicos, como Julio Kuperman, Julio Moreno o Reginaldo Lejarraga, y futuros investigadores, como Ángela Suburo, Tomás Reader, Elisa Bal y Enrique Rodríguez Boulan. Con Enrique no solo compartimos horas de docencia, sino que cursamos juntos materias en Ciencias Exactas y trabajamos una amistad de por vida, junto con María Teresa, su esposa. Sería imperdonable no mencionar a Varisco, personal no docente de la cátedra, personaje pintoresco -y pintor- culto, que algunos alumnos confundían con De Robertis.

Cuando rendí Anatomía Patológica en tercer año, el examen de preparados histológicos debe haber impresionado favorablemente al profesor Lascano, pues me ofreció asistir a la División de Microscopía Electrónica, del Instituto de Microbiología Malbrán, donde él tenía acceso exclusivo a un flamante microscopio electrónico Siemens, con el que estudiaba el vi-

rus de Junín (fiebre hemorrágica). Lo hice una vez por semana, por más de dos años, recibiendo de Lascano muchas enseñanzas, entre otras el no trivial arte del "foco perfecto" en microscopía electrónica, que requiere un manejo contraintuitivo de la imagen en nuestro cerebro.

Mi concurrencia al Malbrán tuvo tres beneficios adicionales. Por un lado, un biólogo de Exactas, el Dr. Bozzini, cuidaba la colección más extensa de microscopios ópticos que he visto en la Argentina, un verdadero museo-anticuariado; por otro, él era un experto y verdadero artista en fotomicrografía, que en ese entonces era, por supuesto, analógica y muy artesanal. Me enseñó las sutilezas del revelado fotográfico, maximizando las variables de contraste, fineza del grano, etc. El segundo plus fue que una vez por mes concurría al Malbrán el ingeniero Cougnet, encargado del mantenimiento de los contados microscopios electrónicos en la Argentina. Dicho procedimiento requería el desarmado, limpieza y pulido de partes delicadas de la columna del microscopio. Cougnet me permitió inicialmente observar, y más tarde colaborar, en esta tarea. Sin duda fue un aprendizaje extremadamente útil, que luego sería clave para mis futuros trabajos. El tercer beneficio de mis visitas de una tarde por semana al Malbrán fue la realización de mi primer trabajo científico, que relataré más tarde.

Este fructífero período coincidió con mi etapa de formación médica en el viejo Hospital de Clínicas -hoy Plaza Houssay. Mi promoción tuvo la fortuna de tener a dos maestros de la Medicina argentina, los profesores Héctor Gotta y Mario Brea en clínica médica y cirugía, respectivamente. Cuando Gotta viajó a Alemania durante un período sabático, le reemplazó Burucúa, quien

dejó una imborrable impresión en todos nosotros, por su excepcional erudición y dotes didácticas.

■ MIS PRIMEROS PASOS EN LA INVESTIGACIÓN

Uno de mis recuerdos imborrables de mi época de ayudante de cátedra de Histología fue cuando asistí como oyente a una reunión científica de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, que se celebraba en el Automóvil Club Argentino. En uno de los intervalos, De Robertis me presentó a don Bernardo Houssay. Creo que, salvo el saludo, no pude articular palabra.

Como adelanté, mis miércoles en el Malbrán tuvieron un fruto adicional. Habiendo aprendido varias técnicas de microscopía electrónica, quise aplicarlas a un estudio concreto. En el Instituto dirigido por De Robertis el grupo de electrofisiología liderado por Hersh (Coco) Gerschenfeld utilizaba como animal de experimentación el *Criptomphalus aspersa*, el caracol común de jardín en Argentina. En el jardín de mi casa había otro "bicho", que mi madre combatía sin éxito: la babosa. Fui al Museo de Ciencias Naturales para averiguar cómo se llamaba ese "cuasi-caracol sin caparazón": *Vaginula soleiformis* D'Orbigny, según la clasificación realizada en 1845 por el naturalista y paleontólogo francés en su viaje por Sudamérica. La "antena" retráctil del bichito fue mi objeto de estudio, que procesé para microscopía electrónica. Al cabo de dos años había reunido datos estructurales respetables, aunque algo ingenuos, sobre la unión neuromuscular de la babosa. En el último año de la carrera monté coraje y fui a verlo a De Robertis. Llevaba conmigo mis resultados experimentales adquiridos en el Instituto Malbrán y un borrador de un trabajo, en inglés. Me

temblaban las piernas mientras le contaba a De Robertis, inicialmente algo dudoso y asombrado, lo que había hecho. Quedó positivamente impresionado, y me sugirió que enviara los hallazgos para su publicación a una revista de anatomía microscópica, cosa que concreté en septiembre de 1968, antes de recibirme. Oficialmente, con la firma de don Bernardo Houssay, una nota de febrero de 1969 del CONICET me informaba que “le ha sido acordada” una Beca de Iniciación bajo la dirección del profesor Eduardo de Robertis...Y a los tres meses de haber comenzado mi beca, ¡parecía publicado el trabajo científico arriba mencionado, con mi sola autoría!

■ LA TRADUCCIÓN DE LA BIOLOGÍA CELULAR DE DE ROBERTIS, NOWISKI Y SÁEZ

Una de las obras más exitosas y perdurables de De Robertis ha sido su libro de texto, inicialmente titulado “Citología General”, que firmaba con el citogenetista uruguayo Francisco Alberto Sáez y el bioquímico y embriólogo de la Universidad de Texas, Wiktor W. Nowinski, versión en la que yo estudié la asignatura en 1963. Recién comenzada mi beca doctoral, De Robertis me propuso traducir su opus magno, la 8ª edición, que en ese entonces ya se llamaba “Biología Celular”, y se publicaba en versión española e inglesa. Esta monografía fue muy novedosa en su época, contrastando con los textos puramente morfológicos de la segunda mitad del siglo XX, al combinar la citoquímica ultraestructural con la biología molecular. Acepté con gusto y enorme orgullo, sin imaginar la envergadura de la tarea que tendría por delante. De Robertis era extremadamente puntilloso y detallista, pero me indujo a discutirle los giros y sentidos de lo que él escribía y yo traducía. En nuestros encuentros en su despacho me ex-

plicaba con entusiasmo los cambios que permanentemente introducía en el libro en base a las ultimísimas novedades que leía de cada tema, lo cual implicaba volver a traducir una y otra vez lo ya escrito. ¡Qué privilegio el haber tenido meses de “clases particulares” de biología celular y molecular con el maestro! Evidentemente depositó en mí una enorme confianza, que se extendió a otra delicada esfera de nuevas tareas: cuando viajaba al exterior -y lo hacía frecuentemente- delegaba en mi gran parte del dictado de sus clases magistrales de Citología. Otra fuente adicional de aprendizaje de la biología celular...

■ EL INSTITUTO DE ANATOMÍA GENERAL Y EMBRIOLOGÍA

El hoy denominado “Instituto de Neurociencias Prof. Eduardo De Robertis” en las décadas del ‘60-’70 era el Instituto de Anatomía General y Embriología, sede de la 1ª Cátedra de Histología, Citología y Embriología. Este instituto era una de las mecas de la ciencia argentina,

junto con la Fundación Campomar (hoy Fundación Instituto Leloir), dirigida por el Dr. Luis F. Leloir.

Tuve la suerte de trabajar durante la “década de oro” de esa institución. El Instituto bullía de actividad, bajo un “coach” hiperactivo, De Robertis, que supo rodearse de investigadores muy talentosos y de diversa formación académica. Bioquímicos como Georgina Rodríguez de Lorez Arnais y Carlos J. Gómez, médicos como Amanda Pellegrino de Iraldi, Hersch (Coco) Gerschenfeld, Flora Wald, Eduardo Soto y el propio De Robertis lideraban los grupos de investigación, que contaban con un plantel de investigadores jóvenes como Julio Azcurra, Dante Chiarandini, Guillermo Jaim Etcheverry, Eduardo Lapetina, Enrico Stefani, Enrique Ochoa, Juana Pasquini, y Jorge Pecci Saavedra, entre otros.

De Robertis era por lo general introvertido y parco, no trasuntando sus emociones. Sabía, por ejemplo, que Enrique Ochoa y yo le imitába-



Figura 2. El Profesor Eduardo De Robertis tras entregarme el diploma en la ceremonia de graduación de médico, diciembre de 1968.

mos, de lo cual se reía cariñosamente, pero no en público. La imitación de Enrique Ochoa era absolutamente perfecta, inigualable. Más de una vez sus asistentes saltaban de su asiento creyendo que quien abría la puerta del laboratorio con un "Hola, m'hijas" era él, calmándose al verificar que era su doble, Enrique Ochoa...

El creciente prestigio internacional del Instituto por los estudios de fraccionamiento subcelular, histoquímica y bioquímica del cerebro, y en particular de las vesículas sinápticas descubiertas por el mismo De Robertis en EE.UU., atraía como un imán a visitantes del exterior. Cuando Ulf von Euler, fisiólogo y farmacólogo sueco descubridor de la noradrenalina y las prostaglandinas, ganador del premio Nobel de Medicina 1970, nos visitara, confesó que no esperaba encontrarse con cuatro ultracentrífugas en marcha

simultánea día y noche en el pasillo... Entre los visitantes también los hubo a nivel postdoctoral. Uno de ellos fue George Gordon Lunt, quien, a poco de doctorarse en la Universidad de Birmingham en el Reino Unido, se unió al grupo de De Robertis con una beca de la *Wellcome Trust*, entre 1968 y 1970, volviendo luego entre 1972 y 1974 mediante un programa de intercambio *Royal Society-CONICET*. Por eso coincidimos durante cinco años en el Instituto, desarrollando una gran amistad que perdura hasta la actualidad. Con George publiqué mi segundo trabajo, combinando histoquímica enzimática con microscopía electrónica (Barrantes & Lunt, 1970).

■ EDGARDO MACCHI Y LA DIFRACCIÓN ELECTRÓNICA

Durante mi época de estudiante doctoral, creció mi interés por los

enfoques biofísicos para estudiar el sistema nervioso a nivel molecular. Así fue como llevé muestras de mis experimentos al Centro Atómico Constituyentes, para realizar espectroscopía infrarroja en el laboratorio de Bonadeo. Pero la más importantes de las actividades "colaterales" fueron las que realizamos con Edgardo Macchi, químico pampeano formado en el prestigioso *Polytechnic Institute of New York University* de Brooklyn. Edgardo trabajaba en el Instituto de Físicoquímica (INIFTA) de La Plata, dirigido en ese entonces por el alemán Hans Schumacher. Durante tres años viajé regularmente un día por semana a La Plata en el tren que la unía con la Capital, aprovechando el trayecto para desayunar en el salón comedor, y estudiar. Así conocí a varios profesores como Brenner y Favelukes, quienes viajaban en el mismo horario.

En el INIFTA compartí gratos momentos con el matrimonio Figini (Rubén y Mariana Marx-Figini), y trabé amistad con los físicos que hacían cristalografía de pequeñas moléculas, entre ellos Eduardo (Pino) Castellanos, quien jugó un papel central en el ciclotrón de Campinas, Brasil. Edgardo Macchi me hizo descubrir el deslumbrante mundo de la difracción electrónica, una de las técnicas físicas que produce imágenes estéticamente impactantes -y breves- de muestras orgánicas: un universo de "estrellas" (el patrón de difracción) simétricamente ordenadas y fugaces -el patrón dura sólo un par de segundos en la pantalla del microscopio. Aplicamos la técnica a las muestras de mis experimentos, pero recién publicamos nuestros resultados años más tarde, cuando Edgardo y su esposa nos visitaran en Alemania (Macchi & Barrantes, 1979).

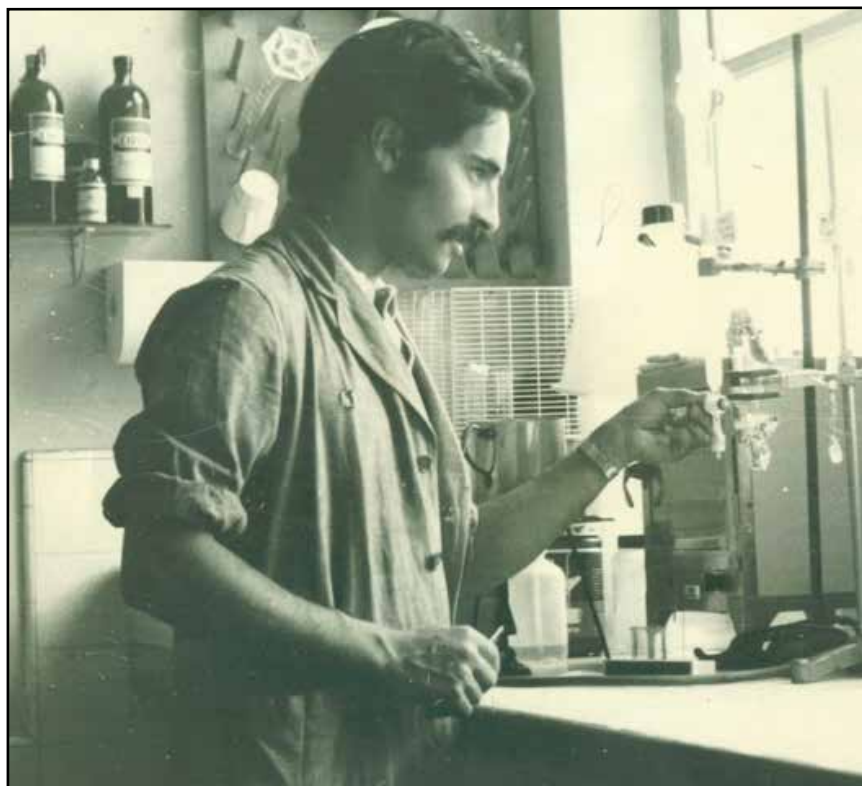


Figura 3. Jugando con columna cromatográfica de Sephadex en el laboratorio del Instituto de Anatomía General y Embriología, 1970.

■ GREGORIO WEBER

Otro hito crucial en mi vida fue conocer a mi segundo *guru*, Gregorio Weber. Después de hacer su (primera) Tesis Doctoral (1942) en la Facultad de Medicina de la UBA bajo la dirección de Bernardo Houssay, partió en barco en plena Segunda Guerra Mundial hacia Inglaterra. En la Universidad de Cambridge, compartió la tradición iniciada por Luis F. Leloir, Ranwel Caputto, y su compañero de camada, Andrés Stoppani. Al igual que este último, Weber realizaría una segunda tesis doctoral en bioquímica (1947), bajo la dirección de Malcolm Dixon. Más tarde, Weber siguió a Hans Krebs, ya Nobel de Fisiología y Medicina, a Sheffield, y a comienzos de la década del '60 fue reclutado por la Universidad de Illinois en Urbana-Champaign.

Gregorio Weber visitó a De Robertis en 1969, y ambos iniciaron una colaboración científica centrada en el uso de espectroscopía de fluorescencia. De Robertis me eligió para ser el experimentador en dicha colaboración, lo cual redundó en el privilegio de ser instruido en teoría y práctica de fluorescencia por uno de sus más grandes pioneros, Gregorio. Del estudio surgió el primer compuesto fluorescente colinérgico (Weber y col., 1971). Ese fue el comienzo del vínculo científico, y luego de una profunda amistad con Gregorio, que he relatado en detalle en dos monografías (Barrantes, 2011, 2016a).

■ LA FABULOSA DÉCADA DEL '70: DE CÓMO CONOCÍ A MI FUTURA ESPOSA Y EL CHURRASCO DE LELOIR

Varias cosas gravitantes sucedieron en mi vida personal y científica en esa década. Las mismas se concatenan de una manera singular. Una

de ellas fue obtener sendas becas de la *Wellcome Trust*, y del *British Council*, que subsidiaron mi viaje a Inglaterra para realizar un breve entrenamiento en difracción de rayos X con el cristalógrafo J. B. Finean en la Universidad de Birmingham, y asistir a la *Harden Conference*, en octubre de 1970. Aproveché esta oportunidad para visitar el famoso Laboratorio de Biología Molecular (LMB) del MRC en Cambridge, donde conocí a John Kendrew, y a Maurice Wilkins en *King's College* de Londres.

Al regreso de mi viaje, escribí mi informe al representante local del *British Council*. A vuelta de correo, recibí una invitación para una recepción pre-navideña en su residencia. El día del encuentro, por primera y única vez en mi vida había ayudado a mi padre en un parto, por lo cual llegué tarde. Coincidí en la puerta de la residencia con una joven, quien también llegaba tarde, por haber asistido a un velorio. Las singulares tardanzas, que parecían responder al *Samsāra* -el ciclo de nacimiento y muerte de la cosmología budista- sirvieron de inicio a la conversación... Así nos conocimos con Phyllis, mi futura esposa. Phyllis, nacida en las afueras de Londres, se había recibido de economista en la famosa *London School of Economics* y trabajaba para el Programa de Desarrollo de las Naciones Unidas (PNUD). Tres años más tarde nos casaríamos en Buenos Aires, antes de partir para nuestra larga estadía en Alemania. Si no hubiese sido por lo "serendípico" de este encuentro, las chances de conocernos hubiesen sido muy bajas...

Además del gusto por las metodologías biofísicas, mis inclinaciones temáticas giraban en torno a las membranas biológicas, tema que seguía sistemáticamente. Así fue como en 1970 escribí un artículo de

revisión sobre el tema, que presenté bajo seudónimo, según estipulaba el reglamento del concurso organizado por la Asociación Argentina Para el Progreso de las Ciencias. Gané el premio, que consistía en la publicación del trabajo científico en la revista *Ciencia e Investigación*, y una suma de dinero. El tesorero de la Asociación resultó ser nada menos que Luis F. Leloir, quien me citó a su domicilio para retirar el monto del premio. Cuando llegué a su departamento, me hizo subir por el ascensor de servicio, que daba a la cocina, donde inesperadamente encontré a Leloir comiendo con apetito un churrasco, en la cocina saturada con el perfume embriagador del bifecito. Me hizo sentar a la mesa mientras extendía el cheque del premio. Nunca en mi vida volvería yo a experimentar el singularísimo tono de calidez, cercanía -y "experiencia sensorial múltiple"- que enmarcó la entrega de ese, mi primer premio en ciencias...

1972 fue un año poblado de viajes. Visité en Utrecht al profesor A. van Deenen, otro de mis héroes, experto membranólogo y editor de *Biochimica et Biophysica Acta*. También asistí a un curso teórico-práctico sobre membranas biológicas en Berna, donde conocí a dos de mis futuros colaboradores: el austríaco Peter Zingsheim, quien era nuestro instructor en membranas artificiales, y el inglés Derek Marsh, otro alumno del curso, con quien luego nos unieran décadas de trabajo colaborativo y nuestras familias sellaran lazos de amistad por vida. Y finalmente el curso de Biología Molecular en la Isla de Spetsai, en Grecia, organizado por Brian Clark y Mark Bretscher del MRC de Cambridge, el que me permitió convivir algunos días con uno de los más inteligentes -y extravagantes- científicos del siglo XX, Francis Crick. Y jugar el partido de

fútbol "LMB Cambridge contra el Mundo" (yo jugué para el planeta). Todo esto funcionó como un caldo de cultivo para madurar mi interés en realizar un período postdoctoral en Inglaterra.

Gregorio Weber gestionó una beca de la Organización Panamericana de la Salud para que yo trabajase algunos meses con él en el Departamento de Bioquímica de la Universidad de Illinois. Cuando llegué a Urbana, el mismo día me puse a trabajar en el laboratorio. Ya tarde, de noche, luchando con un quitasato me corté la arteria principal del dedo medio de mi mano izquierda -mi mano más diestra- que sangraba copiosamente. Ya muy tarde, no quedaba nadie en el laboratorio. Afuera, un bedel limpiaba el pasillo; ofició de mensajero al profesor Weber, quien me llevó a una clínica, y me intervinieron quirúrgicamente. Esa fue la única oportunidad en que hablamos en castellano... Con Gregorio el tiempo voló. Allí conviví con otros "Weberites" de nota: George Mitchell, Richard Spencer, Joe Lakowicz, David Kolb, Greg Reinhart, Fumio Tanaka, Rob MacGregor. Singularizo a Dave Jameson, el científico depositario de la tradición de Weber, dotado de una enorme generosidad y sentido del humor, con quien mantenemos una inquebrantable amistad.

En 1972 comencé mi formación en la Carrera Docente de Medicina. Así conocí a Armando Asti Vera, filósofo y especialista en estudios orientales, quien oficialmente dictaba el curso de Introducción a la Investigación. En la realidad, nos paseaba por la filosofía en general...

Mi tesis doctoral (1973) amalgamó lo experimentado en Buenos Aires, Urbana-Champaign, La Plata y el Centro Atómico Constituyentes de la Comisión Nacional de Energía

Atómica, combinando neuroquímica con microscopía y difracción electrónica, infrarrojo, difracción de rayos X, espectroscopía de fluorescencia, una pizca de farmacología, y mucha diversión. Stoppani fue uno de mis examinadores en la defensa oral. Treinta años más tarde, su discurso me introduciría como Miembro Correspondiente a la Academia Nacional de Medicina.

Mis gestiones epistolares para realizar un post-doctorado en Inglaterra, recibieron una respuesta concreta de Brian Hartley, bioquímico que trabajaba en mutagénesis dirigida sobre el fascinante tópico del origen de la vida en el planeta. Había sido colega de Weber en Cambridge. Un mediodía se produjo un hecho inesperado: De Robertis me invitó a almorzar en su casa. En el ascensor noté un cierto nerviosismo, y cuando ascendió la rampa del garaje, haciendo rugir el acelerador de su auto, De Robertis me dijo: *"Pancho, Ud. es muy reservado, lo sé, pero debería haberme mantenido más informado sobre sus planes para Inglaterra... En la reunión de Directorio (CONICET), Luisito (Leloir) nos contó que a Ud. le acaban de otorgar una beca de la Royal Society para ir a Cambridge..."* Esta sorpresiva revelación produjo un cóctel de neurotransmisores en mi cerebro, resultando en una mezcla de alegría reprimida y vergüenza por mi omisión involuntaria. En el almuerzo, ya sereno, De Robertis me daba consejos sobre mi futura estadía...

■ GREGORIO WEBER CATALIZA MI FUTURO

Una carta de Gregorio Weber, quien estaba haciendo un sábado en Europa, cambió mi destino. Gregorio había conocido a Tom Jovin, un joven investigador discípulo de Arthur Kornberg, reclutado

por Manfred Eigen en Göttingen. En su carta, Gregorio sugería que me pusiese en contacto con Tom, quien estaba reclutando gente para el departamento que comenzaba a liderar. Lo hice, y Tom respondió con una generosa oferta, proveyendo los fondos para que viajara antes de fin de año para incorporarme a su grupo. Consultado Gregorio, su segunda carta sopesaba los pros y contras de uno y otro destino, indicando -sorprendentemente para mí, dada su propia trayectoria- predilección por Alemania. Seguimos su consejo, y en el lapso de tres meses Phyllis y yo nos habíamos casado y empacábamos para el nuevo destino.

■ MI SEGUNDA "DÉCADA DE ORO": EL INSTITUTO MAX-PLANCK DE BIOFÍSICO-QUÍMICA DE GÖTTINGEN

Inicialmente no programada con tanta extensión, mi estadía en el Instituto Karl Friedrich Bonhoeffer en la colina de Nikolausberg, en Göttingen, más conocido con el nombre indicado en el subtítulo, constituyó el período más relevante y fructífero de mi carrera científica y de los más felices de mi vida en el plano personal. Constituyó inicialmente una suerte de segunda luna de miel con Phyllis, con viajes a los Alpes suizos y luego a Hungría y la entonces Yugoslavia. Nuestros tres hijos, Alexandra, Caroline y Diego, nacieron en Göttingen y cursaron allí las primeras etapas de escolaridad primaria. Creamos sólidos vínculos de amistad que perduran hoy, adoptando una actitud proactiva de integración, cosa que recomiendo a quien tiene miras de pasar una estadía prolongada en el extranjero y tengo la oportunidad de aconsejar. Desde el ángulo científico, durante mi estadía en Göttingen (1973-1982), tuve la suerte de establecer contactos con científicos de enorme calidad profesional y humana.

A los tres meses de estar trabajando con Tom Jovin, me ofreció la posibilidad de incorporarme a la planta científica del Departamento de Biología Molecular, con un cargo de la Sociedad Max-Planck, una oferta muy generosa que acepté.

También aceptamos con Phyllis la invitación de Tom para mudarnos al castillo medieval (¡1368!) de Berlepsch. Manfred Eigen, director del Departamento de Cinética Química, amigo del conde de Berlepsch, había gestionado el uso de departamentos del castillo. Éste, ubicado en las cercanías del pueblo de Witzenhausen sobre el río Werra, distaba casi 30 km del instituto, pero bien valía la pena el doble viaje diario. Vivimos en el castillo varios años, coincidentes con los nacimientos de Alexandra y Caroline. El afable conde Hubertus von Berlepsch nos traía la correspondencia en su motoneta. Inolvidables e idílicos recuerdos.

Manfred Eigen había recibido el Premio Nobel en 1967, a la edad de 40, por sus descubrimientos sobre cinética rápida, que yo empezara a cultivar bajo la dirección de Tom en el estudio del receptor de acetilcolina (*stopped-flow* y salto de temperatura). Regularmente asistí a los "*Tee Seminare*" (seminarios de la hora del té) en el Departamento dirigido por Eigen, una experiencia intelectual que nos paseaba por distintas disciplinas, con invitados de primer nivel. Manfred, sentado al fondo del salón, siempre hacía una o dos preguntas incisivas, medulares, al final de cada exposición. Sigue siendo hoy, a los 91 años, el científico que para mí reúne las mayores condiciones de genio entre los que he conocido. En esa época los trabajos científicos para los *Proceedings* de la Academia de Ciencias se enviaban exclusivamente a través de sus miembros. Él lo hizo con tres de mis trabajos, y en

esas ocasiones su curiosidad y sagacidad sobre temas ajenos a su campo sencillamente me deslumbraron.

Mi primera época en Göttingen me permitió dos visitas al Instituto Pasteur para trabajar con otro científico excepcional, Jean-Pierre Changeux, gracias a sendas becas de la Organización de Biología Molecular Europea (EMBO).

Desde el comienzo de la estadía en Göttingen establecí contactos con Erwin Neher y Peter Zingsheim (Departamento de Sistemas Moleculares), Bert Sakmann (Neurobiología), y Derek Marsh (Espectroscopía). Compartí oficina con un gran fisicoquímico y amigo, Bob Clegg, paradigma de la simpatía y poseedor de una solidísima formación. Y caí en cuenta que profesionalmente una de las actividades que me producían mayor placer era el establecer colaboraciones con enfoques complementarios. De allí surgió una de las primeras demostraciones experimentales sobre la existencia de "lípidos anulares" rodeando la sección transmembrana en una proteína integral (Marsh y Barrantes, 1975), y otro en el que combinamos la síntesis química de compuestos fluorescentes específicos del sistema colinérgico, con estudios de microscopía de fluorescencia y electrofisiología, con Tom Jovin y Bert Sakmann (Barrantes y col., 1976), ambos presentados al *Proceedings* por Manfred Eigen.

Por ese entonces Erwin y Bert publicaban su trabajo seminal sobre el uso de la técnica electrofisiológica de *patch-clamp* utilizando el receptor de acetilcolina como paradigma (Neher & Sakmann, 1976), que les conduciría al Premio Nobel en 1991. Fue precisamente nuestra temática común -el receptor de acetilcolina- y nuestra conocida amistad las que indujeron a que el director del

Departamento de Neurobiología, Otto Creutzfeldt, propusiera al Directorio colegiado del Instituto, la creación de un grupo independiente por el período de cinco años, que se denominó Grupo "Biofísica de Membranas" o "Barrantes-Neher-Sakmann", con la anuencia de Tom Jovin, Hans Kuhn y Otto, los directores de los departamentos "parentales", y nos proveyeron un generoso subsidio. Independientemente de la ayuda que aseguraba nuestro financiamiento por el quinquenio, me pareció importante como vehículo de integración el aplicar independientemente a subsidios propios. Esto requirió un esfuerzo en el aprendizaje de la redacción de proyectos en idioma alemán, y su defensa *viva voce* en varios foros, actividad ésta en la que tuve como "entrenador" a mi amigo Kai Gottschaldt, electrofisiólogo precozmente fallecido pocos años más tarde. El esfuerzo se vio recompensado con un importante apoyo de un consorcio de investigación especializado (*Sonderforschungsbereich*) sobre "Sinapsis" del Consejo de Investigación alemán (*Deutsche Forschungsgemeinschaft*).

■ ESTUDIOS DE FLUORESCENCIA DEL ACHR *IN VITRO* E *IN SITU*

Lo que aprendiera de espectroscopía de fluorescencia con Gregorio Weber constituyó la base del trabajo experimental que desarrollé con Tom Jovin en el Max-Planck de Biofísicoquímica en Göttingen, consistente en el diseño y uso de compuestos fluorescentes para estudiar el nAChR. Hans-Jörg Eibl sintetizó derivados del pireno, con largos tiempos de vida media, y con Bert Sakmann los utilizamos para estudiar *in situ* la distribución del nAChR en la unión neuromuscular, en uno de los primeros estudios que combinaron fluorescencia y electrofisiología (Barrantes y col., 1975). Junto

Cuadro 1. Los receptores de acetilcolina nicotínicos

Los receptores de acetilcolina nicotínicos (nAChRs) son proteínas-canales selectivos para cationes, cuya función es mediar la neurotransmisión química excitatoria. Tanto en la sinapsis periférica –la unión neuromuscular o la electroplaca de los peces eléctricos– como en las sinapsis colinérgicas del sistema nervioso central, los nAChRs constituyen uno de los principales receptores de neurotransmisores, traduciendo la señal química mediada por acetilcolina (ACh) e imitada por una de las principales drogas de adicción, la nicotina. El nAChR es una proteína pentamérica, y cada una de sus 5 subunidades contiene cuatro segmentos transmembrana hidrofóbicos, de 20-30 aminoácidos de longitud, denominados M1-M4. Hemos postulado que, además de estas dos regiones principales del nAChR, hay un tercer dominio importante localizado en la interfase lípido-proteica, que incluye a las porciones de la proteína expuestas a los lípidos, por un lado, y los lípidos circundantes al nAChR, por otro (Barrantes 2003, 2004). Estos últimos corresponden a la región del cinturón de lípidos (“ánulo”) ubicada en el perímetro inmediato del nAChR, originalmente descubierta y caracterizada por primera vez en términos de su selectividad y estequiometría (Marsh & Barrantes, 1978).

Cuadro 2. La acetilcolina, neurotransmisor natural, y las drogas que actúan sobre el nAChR

El nAChR posee dos sitios de unión para el neurotransmisor endógeno, la acetilcolina. Tales sitios son de distinta afinidad y están ubicados en la interfase entre las subunidades α - ϵ (α - γ en el receptor muscular embrionario) y α - δ . Compuestos como la α -bungarotoxina o la d-tubocurarina son antagonistas competitivos del AChR. Los indios de las cuencas del Orinoco y del Amazonas envenenaban la punta de sus flechas con el extracto del curare para la caza, introduciendo así este alcaloide en el armamentarium farmacológico colinérgico. Alexander von Humboldt, en 1805, estableció algunas de las fuentes botánicas del curare en varias especies de árboles de Strychnos. Fue recién en la década del '40 cuando se emplearon por primera vez compuestos del curare en anestesiología. Otro grupo heterogéneo de compuestos, entre los que se encuentran anestésicos locales, drogas alucinógenas como la fenciclidina, la clorpromazina, anestésicos generales y algunos alcoholes, se comportan como antagonistas o inhibidores no competitivos del canal del nAChR, ya sea bloqueando el canal iónico o favoreciendo la transición del nAChR a su estado termodinámicamente más estable, el desensibilizado.

con el entonces estudiante de tesis turco Yusuf Tan y mi postdoc español Bernat Soria-Escombs, empleamos más tarde estos compuestos para estudiar *in vitro* la interacción antagonista-receptor mediante técnicas de fluorescencia de cinética rápida, como el salto de temperatura (Tan y col., 1980a,b; Tan y Barrantes, 1980), y con el inglés Mike Dowdall introdujimos su uso como potentes inhibidores de los recaptadores de colina en la presinapsis colinérgica (Dowdall y col., 1976).

En otra serie de investigaciones realizadas con Robert Bonner y Tom Jovin en Göttingen recurrimos a la fluorescencia intrínseca del nAChR

como fuente de señal física. Esto constituyó un innovador y técnicamente muy demandante enfoque de mínima perturbación para estudiar la interacción nAChR-ligando, que nos permitió utilizar el neurotransmisor natural, la acetilcolina (carente de fluorescencia) explotando la fluorescencia de los residuos de triptófano en la proteína receptora -clara influencia de Gregorio. Pudimos de este modo dilucidar la cinética de desensibilización inducido por agonistas (Bonner y col., 1976; Barrantes, 1976). Silvia Antollini en Bahía Blanca ha sido la brillante continuadora de esta tradición “Weberiana”, cultivando la espectroscopía de fluorescencia *in vitro*

como herramienta fundamental de trabajo.

■ LA MICROSCOPIA ELECTRÓNICA Y PROMEDIADO DE MOLÉCULAS INDIVIDUALES A PRINCIPIOS DE LA DÉCADA DEL '80. TRABAJOS CON JOACHIM FRANK, PREMIO NOBEL DE QUÍMICA 2017

Durante mi estadía en Göttingen establecí fructíferas colaboraciones científicas, una de las cuales condujo a las primeras descripciones estructurales del nAChR en su membrana nativa. Estos estudios fueron realizados junto con Peter Zingsheim, Joachim Frank y

Dorothea Neugebauer, mediante microscopía electrónica de alta resolución combinada con reconstrucción de imágenes por promediado de moléculas individuales. Esta original combinación nos permitió describir la estructura del nAChR con una resolución de 1.8 nm a comienzos de la década del '80 (Zingsheim y col., 1980a,b; 1982a). Pudimos así establecer la asimetría de la proteína (Zingsheim y col., 1982a) y más tarde localizar los dos sitios de unión de la α -bungarotoxina (Zingsheim y col., 1982b). Joachim Frank se hizo acreedor al Premio Nobel de Química en 2017, precisamente por el desarrollo de las técnicas de promediado de imágenes que aplicáramos a poco de su creación en esta serie de trabajos.

■ MI RETORNO AL PAÍS: BAHÍA BLANCA

El profesor Rodolfo Brenner, distinguido bioquímico y lipidólogo, fue quien me hizo saber que el Instituto de Investigaciones Bioquímicas de Bahía Blanca (INIBIBB) estaba acéfalo, ocupando interinamente su dirección desde Buenos Aires el profesor Héctor Torres. Aclaró el Dr. Brenner que ya existía un postulante con abultados antecedentes, pero me estimuló a presentarme al concurso de director. Para mi sorpresa, recibí la invitación del CONICET para visitar el Centro Regional de Investigaciones de Bahía Blanca, del cual era parte el INIBIBB. Tras múltiples entrevistas, regresé a Alemania, y a comienzos de 1983 recibí la confirmación de mi entrada en la Carrera del Investigador Científico del CONICET como Investigador Principal y como director del Instituto. Tenía 39 años. Al poco tiempo se realizó el concurso para optar al cargo de profesor titular de Bioquímica. El jurado fueron Luis Federico Leloir, Alejandro Paladini y Juan Dellacha. Concluido el exa-

men, Leloir me dio sabios consejos sobre cómo encarar la conducción de un instituto. Puso especial énfasis en señalar que las tareas administrativas no deberían distraerme de la investigación...

Mi entusiasmo al regresar al país coincidió con el retorno de la democracia; se vivía una época de gran optimismo en múltiples órdenes, no siendo la ciencia ajena a este estado de ánimo colectivo. El INIBIBB, entonces un instituto de creación

reciente, estaba altamente especializado en bioquímica de lípidos. Heredé no sólo la dirección del instituto como tal, sino la de todos los becarios e inclusive, de varios investigadores jóvenes, cuyas temáticas ya estaban determinadas, razón por la cual tuve que compenetrarme acerca de las mismas. Fue un período sumamente formativo en todos los aspectos.



Figura 4. En el balcón del Consulado Argentino en Hamburgo, familia en pleno, renovando el pasaporte. En el sentido de las agujas del reloj: Phyllis, yo, Caroline, Alexandra y Diego. 1980.

■ EL INIBIBB EN EL CONTEXTO INTERNACIONAL: CENTRO DE EXCELENCIA Y CÁTEDRA UNESCO

Mis conexiones con Göttingen se mantuvieron y reforzaron a través de un subsidio de la Fundación Volkswagen con Tom Jovin, que catalizó su primera visita a la Argentina, oportunidad que permitió su encuentro con el presidente en ejercicio, Raúl Alfonsín. Otro proyecto con Derek Marsh fue apoyado por el Servicio de Intercambio Académico Alemán (DAAD) y permitió la visita de Hugo Arias, profesional del CONICET y luego uno de mis tesis doctorales, al laboratorio de Espectroscopia de Derek en Göttingen.

En 1988 recibí una agradable sorpresa: me habían otorgado el Premio de Biología de la entonces denominada "Academia de Ciencias del Tercer Mundo" (TWAS). Ese año los premios en las varias disciplinas científicas fueron entregados por Abdus Salam, premio Nobel de Física paquistaní fundador y presidente de la Academia. El día de la ceremonia Salam me invitó a almorzar. A pesar de la enorme dificultad suya para articular palabras, y más para oír su casi inaudible voz (Salam padecía ya un estado avanzado de Parkinson), sus incisivas preguntas sobre la quiralidad de aminoácidos posiblemente llevaron todo mi caudal sanguíneo de la zona gástrica a la corteza cerebral. Sencillamente, no esperaba esas preguntas almorzando con un físico teórico, por más genial que fuese... Al año siguiente, me sorprendió nuevamente al ver en la revista *Nature* una publicación notable de Salam sobre el tema...

Mi contacto con la TWAS, que se prolonga ya por varias décadas, me permitió conocer además del gravitante Abdus Salam a otros grandes científicos, entre ellos algunos ar-

gentinos notables. Uno de ellos fue Juan José Giambiagi, uno de los más importantes gestores de la física en América Latina, quien en ese entonces se desempeñaba en el Centro Latinoamericano de Física de Río de Janeiro (CLAF). El otro, el bahiense César Milstein, al que me referiré luego. La TWAS incluyó tempranamente al INIBIBB entre las instituciones de investigación destacadas del cono sur, y entre las primeras de Argentina, con la denominación "Centro de Excelencia", calificación otorgada también, más tarde, por el *South Center* de Ginebra, Suiza.

Otro reconocimiento importante para el INIBIBB fue el establecimiento de la Cátedra UNESCO de Biofísica y Neurobiología Molecular (véase Barrantes, 2001), logro que contó con el aval de varias universidades latinoamericanas. La Cátedra catalizó la visita de investigadores de todas partes del mundo y el dictado de cursos de estas disciplinas científicas con asistencia de decenas de estudiantes de América Latina, África, y otras geografías. Visitantes como Anthony Watts del Depto. de Bioquímica de Oxford y Manuel Prieto del Instituto de Físicoquímica de Lisboa, lo hicieron en más de una oportunidad; John Nichols, de Trieste; Andreas Schoenle, Lars Kastrup, Markus Dyba, Stefan Jakobs, y Erwin Neher, de Göttingen, quien recibiera el doctorado honoris causa de la UNS; el neurobiólogo Richard Keynes, bisnieto de Darwin, y profesor en Cambridge; Enrique Rodríguez Boulán, de Cornell; Juan Bacigalupo, Ramón Latorre, del CECS en Santiago de Chile; Michael Adams, de la Univ. de California en Riverside; E. Jiménez, de la Univ. de las Filipinas; Michael White, de la Univ. de Filadelfia; Amit Chattopadhyaya, de Hyderabad, India; o Tom Kirchhausen, de Harvard, entre otros.

Durante dos períodos no consecutivos integré el Directorio de la *International Society for Neurochemistry* (ISN), teniendo a mi cargo el Comité de Ayuda en Neuroquímica, lo cual me permitió trabajar junto a varios científicos en la reinserción de jóvenes investigadores que intentaban retornar a sus países de origen, en otorgar ayudas para la compra de instrumental científico, o en la distribución de colecciones enteras de revistas en países de bajos recursos, tareas muy similares a las que me tocaran luego como vicepresidente de la TWAS. Recibí de Berndt Hamprech, presidente de la ISN, el pedido de organizar el congreso de esta sociedad en Buenos Aires, que tuvo lugar en 2001, coincidentemente con la hecatombe financiera del país.

Una de las visitas más recordadas al INIBIBB y a Bahía Blanca fue la de César Milstein. Un día recibí su llamada telefónica desde Cambridge. "*Pancho, un grupo de ginecólogos me invitan a un congreso en Bahía. Si me organizas actividades con los estudiantes y un par de seminarios sobre mi especialidad, voy*". César era oriundo de Bahía, pero nunca había regresado a su ciudad natal, donde todavía vivía su padre, Lázaro. Logré que la Universidad Nacional del Sur le otorgase el Doctorado *honoris causa*. No sin dificultades, porque contrariamente a cualquier expectativa lógica, el Consejo Superior de la Universidad opuso una notable resistencia, aduciendo que César había renunciado a su nacionalidad, entre otros argumentos aún más objetables. Solicité al rector de la UNS que me permitiese exponer ante el Consejo, lo cual finalmente inclinó la balanza a favor del *honoris causa*... César había pedido que le consiguiéramos dos bicicletas. En su primer día en Bahía, emprendieron el camino a nuestro instituto en las afueras de la ciudad, distante 7 km

del hotel. Sucedió algo inesperado y extraordinario: la gente en la calle reconocía a su ciudadano ilustre, aplaudía desde la vereda, y cuando pasó frente a la universidad una multitud de estudiantes se integró a la caravana, siguiendo a César y Celia a pie... Ya en el instituto, el salón donde se realizaría su exposición estaba totalmente desbordado; a puertas abiertas, una muchedumbre se agolpaba en el hall y los pasillos y se extendía hasta las escalinatas externas. Este homenaje espontáneo fue para César el mejor recuerdo de su visita, junto con la emoción de Lázaro, su padre, cuando César recibía el título en la universidad...

■ INTRODUCCIÓN DE LA METODOLOGÍA DEL *PATCH-CLAMP* EN LA ARGENTINA

Al regresar al país en 1982 traje conmigo instrumental para implementar la técnica electrofisiológica de *patch-clamp*, desarrollada por mis compañeros de aventura en el grupo de Biomembranas en Göttingen, Bert Sakmann y Erwin Neher, por cuyo desarrollo recibieran el Premio Nobel. El contar con el primer picoamperímetro -hecho inédito hasta entonces en Latinoamérica- contribuyó a la formación de los primeros becarios en dicho campo científico: Cecilia Bouzat (1986-1991), Laura Zanello (1986-1995) y Gabriela Amodeo (1987-1989). Afortunadamente varios electrofisiólogos de nota, como el británico Paul Adams de la Universidad de Stony Brook en Nueva York, o Héctor López de Córdoba, contribuyeron iniciáticamente a la formación de esta primera generación de electrofisiólogos de canal único.

Los estudios que iniciáramos en Alemania con el español Manuel Criado nos permitieron establecer

por métodos bioquímicos que la translocación iónica mediada por el receptor de acetilcolina requiere la presencia de colesterol y fosfolípidos cargados negativamente (Criado y col., 1982, 1984). Sobre esta base una de mis más destacadas discípulas, Cecilia Bouzat, llevó a cabo una extensa serie de estudios de *patch-clamp* que permitieron establecer que la conformación del receptor adecuada para la activación del canal es sensible al ambiente lipídico y que la capacidad de la proteína de censar los lípidos estaría localizada en la interfase lípido-proteica (Bouzat y col., 1998). Esta serie de estudios confirmó la capacidad del microambiente lipídico y en particular de los esteroides de modular la función del canal iónico asociado con el nAChR. La Dra. Bouzat desarrolló una brillante carrera científica, siendo en la actualidad Investigadora Superior del CONICET y Vicedirectora del INIBIBB, habiendo sido acreedora al Premio L'Oréal de Paris otorgado a mujeres destacadas a nivel mundial. Y el INIBIBB ya goza de una cuarta generación de electrofisiólogos de canal unitario...

■ LOS SABÁTICOS, MOLDEADORES DE "CIUDADANOS DEL MUNDO" DE NUESTROS HIJOS

Mis casi tres décadas al frente del INIBIBB tuvieron dos períodos sabáticos: en 1986 la familia partió rumbo a Long Island, donde pasamos algunos meses, yo trabajando con el brillante Paul Adams, en el Departamento de Neurobiología de la *State University of New York (SUNY)* gracias a subsidios de la *Ford Foundation* y de la *Howard Hughes* que Paul acababa de obtener. Con Paul organizamos una conferencia en el *Neurosciences Institute* de la *Rockefeller University*, para discutir el tema del receptor de acetilcolina. A mi regreso organizamos una reunión científica importante en San Martín de los Andes (Figura 5).

El segundo sabático respondió a una invitación de Nigel Unwin, del LMB en Cambridge, apoyado por la *Royal Society* y el *Human Frontier Science Program* de Japón. Comenzó en pleno invierno, en época de vacaciones escolares de nuestros hijos, quienes rechinando



Figura 5. Con Gregorio Weber en San Martín de los Andes, en ocasión del *International Workshop on "Acetylcholine receptors and related membrane proteins: current strategies and future developments"*. Bahía Blanca and San Martín de los Andes, Argentina, Septiembre 1988.

los dientes asistieron a la escuela local en Cambridge... (años más tarde lo apreciarían con cariño). Con Nigel intentamos aumentar la cristalinidad de sus especímenes tubulares mediante manipulación de los lípidos, con el fin de mejorar la resolución de la crio-microscopía electrónica del nAChR. La ciencia se complementó con los encuentros con César Milstein y su mujer Celia, Virgilio (Ari) Lew y Teresa, y Alberto Kauman -el "círculo íntimo". César había "educado" a un carnicero local sobre cortes de carne al estilo argentino, y los encuentros gastronómicos se alternaban con sesiones musicales (Ari al violín y Alberto, eximio organista, al piano). También en Cambridge la hora del té era crucial, imperdible, por los encuentros que la infusión oriental catalizaba: Aaron Klug, Fred Sanger, o Max Perutz al alcance de la mano.

Una anécdota inolvidable de ese sabático fue la invitación de Nigel para asistir al "Feast" navideño en su College, Trinity. Había que vestir de etiqueta. Compré un saco de segunda mano en Oxfam, y Richard Henderson me prestó un pantalón. Me presenté en el 19-20 Portugal Place ("The Golden Helix"), la casa de Nigel Unwin que perteneciera a Francis Crick, y que este último visitaba en verano. "Y el chaleco?" preguntó Nigel. Faltaba esa prenda clave. "No es problema" agregó. Subió al altillo, y volvió con 3 ó 4 opciones. Elegí el más pequeño, pero aun así me llegaba muy por debajo del borde inferior del saco... ¡Eran chalecos de Francis Crick!

■ REGRESO A LA MICROSCOPIA: CONTACTO CON EL JOVEN STEFAN HELL Y MIS INICIOS EN NANOSCOPIA

La Fundación Alexander von Humboldt me otorgó el premio homónimo en 1999 para visitar mi

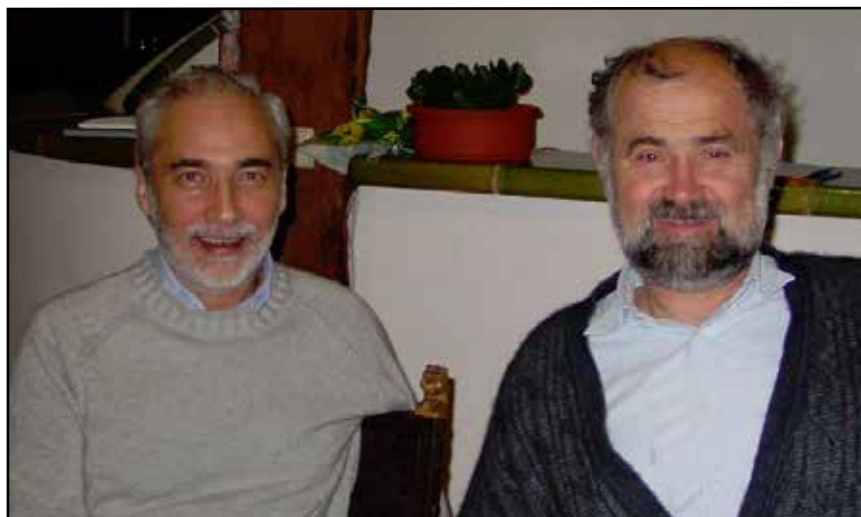


Figura 6. Con Erwin Neher en Göttingen, 2003.

alma mater alemana, en Göttingen. Tras acompañarme a la ceremonia de premiación y simposio anual en Bamberg, Erwin concertó en Göttingen entrevistas con los líderes de laboratorios de microscopía. Mi elección no fue fácil, pues se trataba de científicos de primer nivel. Uno de ellos acababa de regresar de Turku, Finlandia, reclutado por Tom Jovin para liderar un grupo joven. Sus ideas me parecieron brillantes, y el interés en colaborar fue recíproco. Así comenzó un vínculo profesional y de amistad con Stefan Hell. Stefan había concebido y desarrollado conceptos teóricos sumamente novedosos y ambiciosos para superar la barrera de difracción óptica, una ley física que Ernst Abbe formulara en 1873 -escrita en piedra en el monumento erigido en su nombre en Jena. Dicha ley establece la distancia de 200 nm como límite inferior para discernir dos estructuras similares en el microscopio óptico. No era sorprendente, por tanto, que las ideas seminales del joven Hell (Hell & Wichmann, 1994) fueran consideradas herejías inicialmente, cuando el dogma era que la óptica de los microscopios de luz estaba resuelta desde el siglo XIX...

■ JITU MAYOR Y LA FASCINACIÓN DE LA INDIA

En una de las reuniones anuales de la TWAS Obaid Siddiqui, pionero en el uso de la *Drosophila* para estudios de comportamiento animal y fundador del Centro Nacional de Ciencias Biológicas (NCBS) en Bangalore en 1992, me invitó a visitar la India. Allí establecí una colaboración con Satyajit (Jitu) Mayor, un biólogo que acababa de regresar a su país natal tras su doctorado en Rockefeller y postdoctorado en Cornell. Esta colaboración involucró a dos de mis becarios, Ramiro Massol (hoy en Boston) y Virginia Borroni (hoy en Bahía Blanca), quienes realizaron estadias de varios meses en Bengaluru. Mis visitas ya llegan a la docena, atraído por la ciencia y la cultura india. La esposa de Jitu es cineasta, lo cual nos permitió a Phyllis y a mí conocer el riquísimo mundo del arte del subcontinente indio, desde su música clásica hasta el cine experimental. La ciencia en el NCBS es superlativa, y Jitu un cultor de primer nivel de la biología celular, quien pese a su juventud ya es miembro de la Academia de Ciencias de EE.UU. Hemos publicado un trabajo con su grupo (Kumari y col., 2008). Jitu calificó a Virginia

Borroni como “la mejor becaria que había trabajado en su laboratorio”. Totalmente cierto: Virginia es una investigadora muy inteligente y talentosa.

■ LA CONSTRUCCIÓN DEL PRIMER MICROSCOPIO ÓPTICO DE SUPERRESOLUCIÓN EN LA ARGENTINA

En los años que siguieron la microscopía de luz experimentó una verdadera revolución, impulsada por Stefan Hell en Europa, y William Moerner y Eric Betzig en EE.UU. Tuve la fortuna de ser testigo, en sucesivas visitas, de los avances en el campo, de la concreción de sus ideas, trasladadas del papel a su implementación experimental, en lo que se convertiría en el microscopio de superresolución en sus modalidades 4-Pi (que mejora la resolución en el eje Z) y de emisión estimulada, “STED” (*stimulated emission depletion*, que lo hace en el plano X,Y).

Uno de mis discípulos más talentosos, dotado de una gran inteligencia, Javier Baier, viajó becado a Alemania y juntos realizamos experimentos que se concretaron en las primeras observaciones nanoscópicas de un receptor de neurotransmisor (Kellner y col., 2007), y una de las primeras de una proteína in situ en la superficie de una célula. La colaboración con Stefan se extendió a la construcción del primer microscopio óptico de superresolución en la Argentina (y en Sudamérica) con su ayuda y la de más de una docena de sus colaboradores.

■ MI HOJA DE RUTA

A poco de reinsertarnos en Buenos Aires recibí el ofrecimiento de la Universidad Católica Argentina (UCA) para integrarme al Programa de Investigaciones Biomédicas, lo que coincidiera con las etapas fina-

les de la construcción de sus laboratorios, que nada tienen que envidiar a los mejores del sistema Max-Planck o de las universidades americanas de vanguardia. Iniciado por Tomás Santa Coloma, el grupo constaba de 3 investigadores hace 5 años; hoy se ha transformado en el Instituto de Investigaciones Biomédicas, de doble filiación (UCA-CONICET), con un vertiginoso crecimiento: ya somos 22 investigadores de planta, 15 becarios, y 10 profesionales del CONICET.

En la actualidad, alrededor del 9% de la población mundial supera los 65 años. Las proyecciones indican que para el año 2050 esta cifra se duplicará. Dentro de la franja etaria de los mayores de 65, los sajones hablan de los “*oldest old*”, refiriéndose a los mayores de 80. Esta subpoblación, curiosamente no se duplicará en este período, sino que se triplicará, pasando de alrededor de 150 millones a 450 millones. La faceta negativa de este progreso es que muchas de las enfermedades con las que se enfrenta el siglo XXI conciernen a trastornos neurodegenerativos del sistema nervioso central, y en particular, las demencias, cuyo riesgo aumenta claramente con la edad. Hoy, cada 3 segundos se produce un nuevo caso de demencia en el mundo. Las consecuencias sobre la economía, los sistemas de salud, y el andamiaje social en general son inevitables, y ya han adquirido escala global.

Dada mi parcela del saber, la hoja de ruta que me he trazado parte de dos hipótesis: La primera es que varias enfermedades neurodegenerativas cursan en forma clínicamente asintomática con alteraciones de la transmisión nerviosa mediada por neurotransmisores químicos, en la sinapsis; la segunda hipótesis es que dichas alteraciones preceden la degeneración y muerte neuronal.

Por ende, la comprensión detallada del funcionamiento de la sinapsis y de cómo las anomalías de dicho funcionamiento (“sinaptopatías”) conducen a la enfermedad, constituyen los pilares para el desarrollo de biomarcadores aplicables en estadios precoces, presintomáticos, y para el diseño y síntesis de drogas para combatir la enfermedad en sus estadios de manifestación clínica.

Gran parte de nuestros esfuerzos actuales están orientados a estos temas. En el caso de la enfermedad de Parkinson, tratamos de entender, a través de enfoques de farmacología molecular, los mecanismos de acción de drogas que actúan sobre el sistema colinérgico central (Pérez-Lloret y Barrantes, 2016; Pérez-Lloret y col., 2016, 2017), así como en aspectos genéticos de la patología (Pérez-Lloret y col., 2018). En la enfermedad de Alzheimer, nos interesa la relación entre los efectos del colesterol sobre el receptor de acetilcolina con factores de riesgo genético de padecer Alzheimer, como es el caso de ciertas isoformas de la proteína ApoE, dentro del marco de la hipótesis que vincula ciertas dislipidemias del colesterol con el desarrollo inicial de la patología molecular de esta enfermedad (Barrantes y col., 2010; Borroni y col., 2016; Barrantes, 2018). Por otro lado, estudiamos el comportamiento de moléculas individuales del receptor de acetilcolina mediante microscopía de super-resolución en células vivas, siguiendo su movilidad y agregación (Mosqueira y col., 2018), comportamientos cuyas alteraciones podrían conducir a estados disfuncionales. Intentamos así transitar el puente transdisciplinario entre investigación neurobiológica básica y la clínica neurológica (Sanz y col., 2018).

■ BIBLIOGRAFÍA SELECCIONADA

(para listado completo de las citas,

ver <http://uca.edu.ar/es/instituto-de-investigaciones-biomedicas/laboratorios-de-investigacion/laboratorio-de-neurobiologia-molecular/publicaciones-y-otros-logros>)

Barrantes, F.J., Sakmann, B., Bonner, R., Eibl, H., and Jovin, T.M. (1975) 1-pyrene-butyrylcholine: A fluorescent probe for the cholinergic system. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 72, 3097-4001.

Barrantes, F.J. (1998). *The nicotinic acetylcholine receptor: Current views and future trends.* Neuroscience Intelligence Unit Springer Verlag, Berlin/Heidelberg and Landes Publishing Co., Georgetown, TX.

Barrantes, F.J. (2016). Gregorio Weber's Roots in Argentina. In: D.M. Jameson (ed.), *Perspectives on*

Fluorescence: A Tribute to Gregorio Weber, Springer Ser. *Fluoresc.* 17: 17–40, Springer International Publishing Switzerland.

Barrantes, F.J. (2018). *The effects of cholesterol on the nicotinic acetylcholine receptor: An update.* pp. 1-23. In: *Protein-Lipid Interactions: Perspectives, Techniques and Challenges.* Catalá, A. (Ed.) Nova Science Publishers ISBN 978-1-53613-125-3.

Bonner, R., Barrantes, F.J., and Jovin, T.M. (1976) Kinetics of agonist-induced intrinsic fluorescence changes in the membrane-bound acetylcholine receptor. *Nature* 263 429-431.

Marsh, D. and Barrantes, F.J. (1978) Immobilized lipid in acetylcholine receptor-rich membranes

from *T. marmorata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 75, 4329-4333.

Mosqueira, A., Camino, P.A. & Barrantes, F.J. (2018). Cholesterol modulates acetylcholine receptor diffusion by tuning confinement sojourns and nanocluster stability. *Sci. Reports* 8, 11974.

Pérez-Lloret, S. & Barrantes, F.J. (2016). Deficits in cholinergic neurotransmission and their clinical correlates in Parkinson's disease. *Nature Parkinson's Disease* 2, 16001.

Zingsheim, H.P., Barrantes, F.J., Frank, J., Haenicke, W., and Neugebauer, D.-Ch. (1982) Direct structural localization of two toxin-recognition sites on an acetylcholine receptor protein. *Nature* 299. 81-84.