



Memoria del 46.º Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

## Evocando a un Profesor

Evoking a Professor.

Mizraji, Eduardo<sup>1\*</sup>

1. Sección Biofísica, Departamento de Biología Celular y Molecular. Facultad de Ciencias, Universidad de la República;  
Montevideo, Uruguay

\*Correspondencia. Departamento de Biología Celular y Molecular. Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225,;  
Montevideo 11400, Uruguay. Tel. +598 25258618 Ext 7139, [mizraj@fcien.edu.uy](mailto:mizraj@fcien.edu.uy), [emizraji@gmail.com](mailto:emizraji@gmail.com)

### Resumen

En este artículo se describe la experiencia de haber sido estudiante del Profesor Mario Calcagno en la Facultad de Medicina de Montevideo entre fines de la década de los 60 y comienzos de los 70. Hay un especial énfasis en la descripción de los originales y eficaces procedimientos docentes del Profesor Calcagno. También se analizan aspectos relevantes de sus investigaciones enzimológicas y la importancia capital de las regulaciones alostéricas para él y los integrantes del laboratorio. Finalmente se señala la influencia permanente que Mario Calcagno tiene sobre sus estudiantes.

*Palabras clave:* Enzimología, termodinámica, regulación alostérica.

### Abstract

This article describes the experience of being student of the Professor Mario Calcagno in the Faculty of Medicine of Montevideo between the end of the 1960s and early 1970s. There is a special emphasis in the description of the original and effective teaching procedures of Professor Calcagno. It also discusses relevant aspects of their enzymological research and the importance of allosteric regulation for him and the members of the laboratory. The permanent influence that Mario Calcagno has over his students is finally emphasized.

*Key words:* Enzymology, thermodynamic, allosteric regulation.

### Introducción

En el jardín de senderos que se bifurcan representado por los destinos potenciales de un estudiante, a veces éste tiene la fortuna de encontrarse con profesores que trazan senderos en ese jardín virtual que orientan el derrotero de su vida hacia territorios que les permitirán una intensa superación humana y profesional. Una vez que los maravillosos maestros de la educación primaria nos han alfabetizado, de los muchos profesores que luego un estudiante conoce, muy pocos alcanzan a ser "Sus

Profesores", esos que tienen impacto permanente y decisivo en su futuro.

El Profesor Mario Calcagno fue para mí ese tipo de Profesor, y conocerlo, en los lejanos años del final de la década de los 60, definió una parte muy amplia de mi destino futuro. Dado que nuestro vínculo pasó en poco tiempo a ser de fuerte amistad (sin dejar nunca de ser su estudiante) el Profesor Mario Calcagno pasó para mí a ser Mario, y así lo nombraré en esta evocación.

Quiero sintetizar la esencia de Mario-Profesor señalando como una de sus características constantes, presente en la década de 1960, presente en 2019, la siguiente: Mario, cultural y científicamente siempre por encima de sus estudiantes (pero sin buscarlo, sin petulancia, sino por la propia naturaleza del talento y la aptitud que él no puede evitar), hace crecer a sus estudiantes a la vez que se hace crecer él mismo. Mario nunca deja de aprender al enseñar. Mario es un aventurero que siempre se lanza a explorar los senderos misteriosos del enigmático mundo de las proteínas. Mario envuelve sus exploraciones técnicas y científicas con su vastísima cultura biológica, y así siempre da un profundo contexto evolutivo y fisiológico a sus investigaciones.

En este texto voy a relatar algunos aspectos de la fascinante vida científica a la que Mario me condujo.

### **Mi encuentro con Mario**

Durante mis estudios primarios y liceales, yo fui un estudiante errático. Oscilando entre la literatura y la ciencia, lector incesante de novelas y cuentos, llegué a mis estudios preuniversitarios (que cursé en el prestigioso Instituto Alfredo Vásquez Acevedo de Montevideo, Uruguay), con una bifurcada y firme vocación por la física y la psiquiatría. El prestigio científico de la Facultad de Medicina de la Universidad de la República finalmente guió mi opción, frente a estudios universitarios de física todavía muy mal definidos por aquellos años en nuestra Universidad. Durante el preuniversitario, estimulado por mis lecturas de libros de física, había profundizado mi cultura matemática y, entre otros, había estudiado por mi cuenta el venerable y hermoso libro "Cálculo Diferencial e Integral" de Granville, Smith y Longley. Pero también había leído con intensidad e igual placer a Freud y a Ingenieros (el criminólogo y psiquiatra argentino). De modo que en este estado de gustos bifurcados ingresé en la Facultad de Medicina.

Ya en la facultad, fui muy feliz desde el comienzo. La anatomía humana, que estudiábamos muy profundamente, me fascinó, así como también los cursos de biología celular, histología y embriología. El trabajo en la sala de disección era arduo y nos llevaba varias horas diarias. Yo había logrado trabajar durante la mañana y liberarme de mis obligaciones temprano en la tarde, para asistir a las otras clases con mi tarea terminada o quedar libre para vagabundear por los hermosos barrios que rodeaban la facultad.

Una tarde decidí vagabundear por el propio edificio de la facultad que era donde se dictaban buena parte de los cursos básicos. Esa tarde me asomé al gran anfiteatro de fisiología, simétrico con el de anatomía, que era el que yo conocía hasta ese momento. Allí asistían los estudiantes del segundo año que recibían las clases teóricas de fisiología, bioquímica y biofísica. Ese día me topé con un debate intenso entre los estudiantes y un profesor sobre la interpretación estadística de la entropía. En ese debate, el profesor, junto a muchos tópicos, también arguyó que todos los papeles que los estudiantes tenían ante sí y en los que estaban tomando notas, tenían una propensión termodinámica impuesta por el segundo principio de la termodinámica a entrar en ignición con el oxígeno del aire, y que si no lo hacían era porque existía una entidad llamada "energía de activación", que una cerilla encendida abolía esa barrera de activación (como los estudiantes podrían comprobar de inmediato incendiando sus notas), también comentó que el amarillar de los libros viejos era una ignición lenta, y así una turbulenta pero muy cordial discusión sobre ideas que desconcertaban a muchos de sus oyentes. El anfiteatro estaba repleto, y el profesor era un individuo joven, de baja estatura, gran cabeza y gruesos lentes, que emitía astutos argumentos cualitativos para convencer a los estudiantes que el segundo principio de la termodinámica tenía una base estadística, con consecuencias trascendentes para comprender la organización de los sistemas biológicos. Se trataba de una clase del curso de Bioquímica y el profesor era Mario Calcagno.

No volví a ver a Mario hasta el año siguiente. La intensidad y exigencia de los cursos del primer año me absorbieron. Los cursos del segundo año resultaron magníficos. Cada uno de esos cursos era organizado y dictado por distintos equipos docentes que a la vez que sus respectivos temas, nos enseñaban una variedad rica y heterogénea de técnicas de enseñanza de las ciencias. En el curso de bioquímica, la enzimología estuvo ese año a cargo del profesor Eugenio Prodanov, destacado investigador experto en la bioquímica y la cinética de la xantina-oxidasa y en el uso de la bioluminiscencia en los estudios cinéticos. Mario Calcagno y sus colaboradores se ocuparon del metabolismo glucídico. Aquí Mario realizó un extraordinario experimento docente. En vez de enseñarnos las construcciones ya clásicas como la vía glucolítica o el ciclo de Krebs tal como las presentaban los textos usuales, Mario nos mostró los pasos de reacción con el mismo grado inicial de desarticulación que tenían cuando fueron originalmente descubiertos por los bioquímicos de la primera mitad del siglo XX. Este

módulo docente, que incluyó demostraciones prácticas, nos mostró las piezas del rompecabezas sin armar. Eso nos llevó a vivir el desconcierto ante la variedad de pasos de reacción inconexos, y luego el "eureka" del ensamblado armónico. Pudimos entonces entender por qué a varios de estos investigadores que armaron el rompecabezas del metabolismo energético los habían galardonado con sus Premios Nobel. Para mí fue una notable experiencia personal, que me mostró los complejos meandros de las síntesis científicas.

Aprobados mis exámenes, se abría posibilidad de ingresar como docente de iniciación honorario en algunos de los Departamentos. Yo deseaba hacerlo pero vacilaba entre biofísica o bioquímica. Luego de un largo paseo introspectivo por nuestro Parque Rodó, evocando la fascinación que me provocó la cinética enzimática y la personalidad de mis docentes, opté por solicitar mi ingreso al Departamento de Bioquímica. Esta fue una de las decisiones más importantes y positivas de mi vida.

### La enzimología

Gracias al curso de Bioquímica, entendí que en las enzimas residía la base física de los fenómenos de la vida. Esto sumado a que la cinética enzimática requería movilizar una variedad de recursos matemáticos en el análisis de experimentos que, desde el inicio, me evocaron al enfoque de la física que me había fascinado de adolescente. Cuando ingresé en el grupo de Mario, a fines de 1969, sus colaboradores inmediatos eran Enrique Arambide y José Levy. Con él también colaboraba una virtuosa técnica, Esther Veiga de Ibarlucea. El laboratorio estaba situado en el tercer nivel de una de las cuatro torres ubicadas en cada esquina del venerable edificio de la Facultad de Medicina de la Avenida General Flores. Se trataba de la torre situada en el ángulo suroeste del edificio, con amplios ventanales y hermosa luz.

La enzima que ellos investigaban, la enigmática glutamina fructuosa-6-fosfato aminotransferasa (EC 2.6.1.16), era una enzima alostérica de conducta extraña (transaminasa no secuencial, con una rara y estrecha curva de pH y de purificación total imposible en aquellos tiempos). No entraré en detalles sobre esta enzima y su peculiar cinética, pues todo esto está descrito en un artículo de 1971 [1]. La enzima fue primero estudiada en cartílago de pollo y luego en *E. coli*, lo que nos llevó a una fascinante conversión del laboratorio puramente bioquímico en un laboratorio a la vez de enzimología y de bacteriología. Pero en lo que respecta a mi

aprendizaje y a la sostenida guía de Mario, esta enzima fue la fuente de muchos eventos, desde nuestra necesidad de comprender y profundizar los fenómenos alostéricos hasta el hallazgo de una nueva enzima alostérica con la que Mario realizaría en los años posteriores fundamentales aportes. Sobre esta nueva enzima, la glucosamina-6-fosfato desaminasa de *E. coli*, cuya muy compleja estructura molecular fue la primera completamente resuelta en Latinoamérica por el equipo de Mario, tampoco me voy a explayar. Mario y sus colaboradores podrán hacerlo con mucha más profundidad que yo.

Por esos tiempos se publicó en el semanario "Marcha" de Montevideo la traducción del reportaje a Jacques Monod, publicado días antes en Le Nouvel Observateur, con el título "El escándalo de la Vida". Por esas fechas también apareció en las librerías de Montevideo "El Azar y la Necesidad" [2], que junto a las polémicas que provocó puso a los mecanismos alostéricos en el centro de la atención de biólogos y bioquímicos. Allí se argumentaba que detrás de los mecanismos de regulación de la expresión génica y de la regulación y control de la dinámica de las vías metabólicas, se encontraban las proteínas alostéricas. A la existencia de esas aptitudes de regulación alostérica por parte de ciertas proteínas, Monod la denominó "el segundo secreto de la vida". Esta denominación obedecía a la idea de que los mecanismos alostéricos y su capacidad de optimizar la función celular en un ambiente dado, conjuntamente con la replicación semiconservativa del DNA y la capacidad de los genes de mutar, dotaban a la evolución darwiniana de sus necesarias bases físicas.

Pero el laboratorio de Mario había empezado a interesarse fuertemente en la regulación alostérica antes que ésta saltara a la "primera plana", por así decirlo. En lo personal, la cinética enzimática me indujo a mejorar mis destrezas matemáticas y a comprender la filosofía de la construcción de modelos matemáticos sometidos a la confrontación con los datos experimentales. Todo esto catalizado por el constante estímulo que Mario creaba con sus continuos interrogantes y desafíos.

Otro tema que deseo destacar especialmente, y que era un signo del laboratorio de Mario, era el cuidado en el diseño experimental. Nuestros experimentos comenzaban con nosotros sentados largo tiempo ante una mesa y enfrentados a una planilla preimpresa con numerosos casilleros (planilla que Mario había diseñado e impreso en centenas de ejemplares). Allí anotábamos las variables que exploraría el experimento (concentración de uno de los sustratos,

concentración de un efector alostérico, pH, etc). La columnas o filas correspondían a los muchos tubos que incluiría el experimento. Los tubos se ubicaban en una gradilla y el experimento, con la enzima obtenida del mismo homogeneizado parcialmente purificado, se lanzaba poniendo la gradilla en un baño termostatizado. Al cabo de un tiempo calibrado para validar la condición de "velocidades iniciales", el experimento finalizaba. Luego venía la etapa de lectura de los datos en el espectrofotómetro del laboratorio. Luego la representación gráfica manual de los resultados. Cuento esto para contrastar la lentitud de aquellos tiempos con las velocidades experimentales usuales hoy en día. Pero aquella lentitud nos daba maravillosos tiempos de espera que llenábamos charlando de literatura o estudiando artículos que necesitábamos entender.

### La fascinación termodinámica

En el laboratorio de Mario hacíamos un culto del estudio de la termodinámica. Habíamos pintado de negro la pared lateral del laboratorio fotográfico con lo que contábamos con un enorme pizarrón y allí, analizando diagramas y ecuaciones, matábamos los tiempos de espera entre los experimentos o hacíamos seminarios internos con un expositor y tres auditores. Múltiples textos fueron base de nuestro estudio de la termodinámica, donde ese gran pizarrón jugó un rol crucial: varios capítulos del "*Biophysical Chemistry*" de Edsall y Wyman [3], el texto de termodinámica de Enrico Fermi [4], y también notas profundas realizadas por Juan Coch, un profesor de fisicoquímica de la Facultad de Química de nuestra Universidad.

La asistente técnica de Mario, la Sra. Esther Veiga, poseía una cultura extraordinaria y era una lectora velocísima. En una jornada, y a pesar de su intenso trabajo como técnica y asistente de Mario, Esther podía llegar a leer dos novelas íntegras. Esther, por razones familiares, era la práctica propietaria de la notable biblioteca del profesor José Scosería, uno de los fundadores del Departamento. Esta biblioteca estaba emplazada en la oficina del Profesor Israel Korc, que era el director del Departamento. Esta biblioteca era algo mágica por las maravillas que contenía. Esther, que llegó a captar lúcidamente la variedad de mis intereses, tuvo la enorme generosidad de regalarme dos obras notables. Por un lado, los cuatro tomos de la "Medicina Legal" de Mateo Orfila, publicados en Madrid en 1847, obra fundacional en los anales de la criminología científica (Orfila, español, fue decano de la Facultad de Medicina de París y lleva su nombre uno de sus principales anfiteatros). Por otro lado, un pequeño

libro editado en París en 1921 por Armand Colin titulado "Théorie Cinétique des Gaz", cuyo autor era Eugène Bloch [5].

El libro de Bloch, a pesar de su tamaño reducido es un exhaustivo estudio matemático de la termodinámica estadística, que no elude tecnicismos ni sutilezas matemáticas. Allí están la derivación detallada de la distribución de Boltzmann, las fórmulas estadísticas para la entropía, la teoría de las fluctuaciones de Einstein, la teoría del movimiento browniano, entre muchos otros tópicos, todos tratados con singular elegancia y economía de medios. Ese libro de Bloch me absorbió durante semanas y para seguirlo debí adquirir varias técnicas matemáticas novedosas para mí. Gracias al esfuerzo que me costó entenderlo, creo que pude elevar bastante mi comprensión de la mecánica estadística. Además, era claro que mi percepción de las bases físicas de la cinética enzimática se expandía a medida que progresaba por ese libro. Implícitamente surgía de este tipo de estudio el sutil problema de que la cinética enzimática, regida por ecuaciones diferenciales determinísticas, recubre fenómenos esencialmente aleatorios como el "encuentro" de los ligandos con los sitios específicos de las macromoléculas. La mecánica estadística lleva a posibles respuestas para la célebre pregunta ¿Cuál es el intervalo de concentraciones de macromoléculas y ligandos que hace válido un tratamiento determinístico?

Muchos años después, vi en un mural de la Facultad de Ciencias de París el nombre de Eugène Bloch integrando una extensa lista de profesores deportados por la ocupación nazi a los campos de exterminio. Hoy en la web podemos aprender mucho sobre Bloch. Por un lado, que fue un físico de gran talento y prestigio. Su amor por la investigación lo llevó a huir de París e instalarse para proseguir sus investigaciones más al sur, en la llamada "Francia libre", lo que le fue fatal. Deportado a Auschwitz, allí desapareció.

### El laboratorio de Mario y el modelo MWC

Modelo MWC. Tal es el nombre con que hoy día se designa al modelo alostérico publicado en 1965 por Monod, Wyman y Changeux [6]. Para el laboratorio de Mario era esencial conocer y comprender plenamente los detalles de este modelo. Especialmente esencial porque la enzima que Mario investigaba, la glutamina fructosa-6-fosfato transaminasa (EC 2.6.1.16), era decididamente alostérica según los criterios diagnósticos usados en aquellos tiempos, pero no mostraba ningún indicio de

cooperatividad. Parecíamos tener entre manos una excepción frente al paradigma naciente, lo que era a la vez grave y excitante, y nos daba una seria responsabilidad de confirmación antes de comunicar los resultados. Por consiguiente, teníamos que tratar de comprender todo sobre el modelo MWC, pero por la aleatoriedad del correo en esos años turbulentos, las colecciones de revistas tenían fuertes discontinuidades. Y en particular el número del *Journal of Molecular Biology* (JMB) donde el modelo fue publicado nunca llegó a la gran biblioteca de la facultad. En esos tiempos tan antiguos y desprovistos, sólo podíamos intentar resolver las ausencias bibliográficas mediante las tarjetitas de solicitud de separatas a los autores, lo que sumaba dos incertidumbres: la disposición del autor y el funcionamiento de nuestro correo. Pero nos urgía comprender el modelo y en esto nos ayudó el azar de un modo algo retorcido. Ocurre que sí estaba en la biblioteca el número del JMB que contenía el artículo de Blangy, Buc y Monod publicado en 1968, en el que los autores analizan experimentalmente la conducta alostérica de la fosfofructoquinasa y la ponen en correspondencia con el modelo MWC [7]. Pero el texto incluye una elegante y muy compacta descripción del modelo. Esta revisión de la teoría fue la base de uno de mis primeros seminarios en el Departamento de Bioquímica. En ese seminario, y gracias al hecho de que yo estaba imbuido de algunas nociones de estadística y cálculo de probabilidades, pude presentar una derivación completa y un poco extraña del modelo MWC. El aspecto algo cómico del seminario, y así lo enfatice cuando lo presenté, era que la clave para el acceso a la fórmula final del modelo MWC consistía físicamente en realizar una disociación intelectual de los oligómeros, y matemáticamente en aprovechar las ocultas virtudes de multiplicar los términos de un cociente por el número 1. El lector curioso puede asomarse al Apéndice, donde reproduzco esa deducción inspirada en el artículo del JMB de 1968.

También, y como corolario de nuestra pasión termodinámica, nos volvimos estudiosos sistemáticos de los artículos de Jeffries Wyman Jr. No voy a entrar a describir la vida notable de este científico que luego de jubilado pasó por Roma y allí, atrapado por sus colegas hemoglobínólogos italianos, quedó y relanzó su carrera científica, realizando luego sus más relevantes contribuciones (entre ellas, el modelo MWC). Mario le solicitaba a Wyman artículos que no conseguíamos en Montevideo con breves saludos en italiano, y Wyman tenía la gentileza de enviarlos. La extensión de las relaciones de Maxwell de la termodinámica a las interacciones de las macromoléculas con sus ligandos fue otra notable

contribución de Wyman a la ciencia. En el gran pizarrón de la torre, Mario y sus colaboradores pasamos emocionantes horas decodificando asombrados las elegantes y profundas ecuaciones de Wyman.

### Mario en México

Pero las sombras hacía tiempo que se empezaban a propagar por el sur de América. Formalmente nuestra noche comenzó en febrero de 1973, y en junio y octubre ocurrieron respectivamente el golpe de estado y la intervención de la Universidad de la República.

Una vez que Mario se radicó en México, yo me concentré en terminar mis estudios de medicina. Previamente, en coordinación con Mario yo había renunciado a mi cargo de Ayudante de Clase en el Departamento. Desde México, el apoyo que yo tuve de Mario fue continuo. En primer lugar su aliento para seguir trabajando en Uruguay en la medida de lo posible a pesar del desastre político y académico. Una vez graduado en 1975, yo comencé mis estudios de postgrado de psiquiatría, pero los interrumpí en 1976 cuando obtuve una beca del gobierno francés para profundizar mi formación como investigador en ciencias básicas. Esto me permitió obtener un diploma en matemática aplicada en la Universidad de Paris V.

Una de las recomendaciones que Mario me hacía con insistencia era que presentara ante la Facultad de Medicina una tesis de doctorado académico. Eso estaba previsto por el plan de estudios del que yo dependía (Plan 1945) donde luego del doctorado profesional, el graduado tenía cinco años para presentar una tesis y poder aspirar a un doctorado académico. Desde años atrás, previos a la intervención de la Universidad, Mario había insistido en que los investigadores de las ciencias básicas que se graduaran de médicos, podrían usar esas tesis académicas con el enfoque de los PhD en Ciencias. Poca gente lo hizo, pero Mario tuvo éxito con un alumno que trabajaba en Buenos Aires en la Fundación Campomar (donde Leloir tenía su grupo), que presentó a la Facultad de Medicina de Montevideo una tesis sobre un tema de biología molecular.

Estando yo nuevamente en Paris en 1979, volví a reflexionar sobre una potencial tesis de doctorado, siempre con las recomendaciones de Mario en mi mente. Tenía la posibilidad de presentar ese mismo año en la Universidad de Paris V una tesis de doctorado de tercer ciclo en Matemáticas, pero

también era la última ocasión para la posible tesis en la Facultad de Medicina de Montevideo. Por un sentimiento de intenso afecto a mi pasado en el grupo de Mario, resolví presentar una tesis en Montevideo. Quería además desafiar a la facultad intervenida con un tema que la propia intervención había hecho desaparecer. De modo que me propuse presentar una tesis sobre cinética enzimática. Yo había trabajado en un problema fascinante que descubrí en un perspicaz artículo de Jeffries Wyman publicado en 1975 y titulado "*The turning wheel: a study in steady states*" [8]. El problema era el de las condiciones de existencia de cooperatividad cinética en enzimas monoméricas.

La imposibilidad termodinámica de que exista cooperatividad en la unión de ligandos a monómeros de múltiples conformaciones, queda abolida si dichos monómeros están operando en estado estacionario fuera del equilibrio. Esto lo mostraba Wyman en ese artículo de 1975. Pero este fenómeno también estaba vinculado a las enzimas mnemónicas descritas por Carl Frieden [9]. Dado que yo no tenía acceso a laboratorios de enzimología o a datos experimentales, decidí investigar matemáticamente el conjunto de condiciones en las que la isomerización de una enzima monomérica, con conformaciones con diferente afinidad por los sustratos o diferentes constantes catalíticas, puede producir cooperatividad cinética. Se trataba de una extensión de las ideas alostéricas sobre sistemas K y V. El problema era matemáticamente atractivo y no totalmente fácil. Pero los resultados que obtuve me permitieron presentar mi tesis en 1980 [10], y afortunadamente (e inesperadamente) fue aprobada con la máxima calificación. Esta tesis quiso, en su modestia y a la distancia, ser un homenaje de su alumno a Mario.

En 1981, Mario me consiguió una beca para asistir a una escuela internacional de Biofísica que tendría lugar en Oaxtepec. A esa beca se sumaba la inscripción para un congreso conjunto de Biofísica y Bioquímica que ocurriría en el Centro Médico de ciudad de México. Pasé muchas semanas en México. No voy a contar aquí mis experiencias en esa tierra fascinante. Quiero destacar que en ese congreso conjunto, quizá el más importante de los muchos a los que concurrí en toda mi carrera, se realizó un simposio de homenaje a Jeffries Wyman, con motivo de sus ochenta años. Allí estaban el propio Wyman junto con Edsall, Changeux y buena parte de los más renombrados investigadores en fisicoquímica de macromoléculas. Al final de ese simposio magnífico, pleno de evocaciones biográficas por parte de los expositores, tuve ocasión de hablar un ratito con Jeffries Wyman. Él me contó con entusiasmo los

nuevos enfoques que estaba investigando en Roma con sus colaboradores, y que aplicaban a la biofísica de las macromoléculas y sus interacciones con los ligandos, procedimientos adaptados de la mecánica estadística. En particular me habló del entusiasmo que le provocaba explorar las propiedades de los polinomios de unión ("binding polynomials"). Nueve años después, en 1990, conjuntamente con Stanley Gill, Wyman publicó un libro conteniendo esos nuevos enfoques de los que me habló en 1981. Ese libro, hoy ya un clásico (y una referencia constante en el laboratorio de Mario Calcagno) se titula "Binding and Linkage" [11].

Este fue un período fascinante de mi vida, en el que Mario fue un maestro que colaboró activamente en sostener mi actividad científica en los tiempos difíciles que vivía Uruguay. Por fortuna los históricos eventos de 1980, la valentía de la ciudadanía uruguaya con su sostenida oposición al régimen militar, y la habilidad y experiencia de los partidos políticos proscritos, reconquistaron nuestra democracia, que recuperó su plena vigencia en 1985.

#### Desde ese ayer hasta hoy

En el entusiasmo de la reconstrucción política y cultural de Uruguay, se reforzó y expandió notablemente nuestra estructura científica. Mario, desde su puesto de la UNAM, fue un protagonista desde la primera hora de este proceso de reconstrucción. Lo fue asistiendo frecuentemente a Montevideo para realizar cursos y seminarios. Lo fue recibiendo en su laboratorio a jóvenes uruguayos que luego tuvieron carreras científicas destacadas.

En lo concerniente a mí, comento que me involucré activamente con la creación de la Facultad de Ciencias de la Universidad de la República, Facultad donde, desde su inicio en 1991, pasé a ser profesor titular de biofísica y jefe de la Sección Biofísica. Señalo al pasar que mi cargo de dedicación total me permitió tomar a fines de la década de 1990 un año sabático. Utilicé este sabático para escribir un libro que relata la epopeya del hallazgo de los fenómenos alostéricos con sus implicaciones para la teoría de la evolución y para la fisiología. Este libro se publicó en Montevideo en 1999 [12].

En lo que concierne a mi trabajo de investigación, yo realicé una "transmigración" extraña. Luego de algunas contribuciones a los modelos físicos de macromoléculas con cambios conformacionales (en especial un modelo viscoelástico que publicamos junto a colegas en 1987 [13]) y de publicar con un colega una teoría general de los fenómenos

cooperativos (que incluía un procedimiento muy sensible para la medida experimental de la cooperatividad) [14], yo me trasladé hacia las neurociencias. Pero ese traslado estuvo impregnado de conceptos extraídos de los sistemas alostéricos y de las ideas de Jacques Monod, en particular la necesidad de señales regulatorias y la exigencia de gratuidad. Mi primer contribución a este dominio fue aplicar las precedentes ideas a los códigos vectoriales implícitos en los modelos de memorias matriciales. Estos modelos comenzaron a tener auge en la década de 1970 y yo los conocí en París en seminarios organizados por Jean-Pierre Changeux en el Collège de France. En el primero de estos artículos neurales, "Context-dependent associations in linear distributed memories" publicado en 1989, la influencia de Monod está explícitamente incorporada [15]. En diciembre de 2018, este trabajo germinal de 1989 nos permitió publicar un artículo ("*Tensor representation of topographically organized semantic spaces*") en

Neural Computation, la revista del MIT [16]. Mi primer artículo en modelos de memorias y también nuestra más reciente publicación, muestran cuál es el tema al que me he dedicado en las décadas precedentes. Debo enfatizar que, a pesar de la aparente lejanía temática, todos los trabajos que he publicado en el dominio neural han tenido como impronta la filosofía de los sistemas de regulación establecidos en la teoría alostérica, y las enseñanzas de Mario están detrás de todo esto.

No he vuelto a la enzimología como investigador, pero sigo ocupándome de realizar cursos de postgrado sobre la fisicoquímica de la unión de las macromoléculas con sus ligandos. El legado enzimológico está intensamente vigente en remarcables contribuciones recientes realizadas por investigadores uruguayos sobre los que Mario y sus enseñanzas han tenido importancia relevante.

## Referencias

1. Calcagno, M., Levy, J.A., Arrambide, E., Mizraji, E. (1971) *Enzymologia*, **41**, 175-182
2. Monod, J. El Azar y la Necesidad (1971) Monte Ávila Editores, Barcelona.
3. Edsall, J.T., Wyman, J. (1958) *Biophysical Chemistry*, Academic Press, New York.
4. Fermi, E. (1968) *Termodinámica*, EUDEBA, Buenos Aires.
5. Bloch, E. (1921) *Théorie Cinétique des Gaz*, Armand Colin, Paris.
6. Monod, J., Wyman, J. Changeux, J.-P. (1965) *J. Mol. Biol.*, **12**, 88-118.
7. Blangy, D., Buc, H., Monod, J. (1968) *J. Mol. Biol.*, **31**, 13-35.
8. Wyman, J. (1975) *PNAS*, **72**, 3983-3987.
9. Frieden, C. (1970) *J. Biol. Chem.*, **245**, 5788-5799.
10. Mizraji, E. (1980) *Efectos Cinéticos de las Transiciones Conformacionales de las Enzimas*, Tesis de Doctorado, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.
11. Wyman, J., Gill, S.J. (1990) *Binding and Linkage*, University Science Books, Mill Valley, California.
12. Mizraji, E. (1999) *El Segundo Secreto de la Vida*, Trilce, Montevideo.
13. Mizraji, E., Acerenza, L. Lin, J. (1987) *J. Theor. Biol.* **129**, 163-175.
14. Acerenza, L. Mizraji, E. (1997) *Biochim. Biophys. Acta*, **1339**, 155-166.
15. Mizraji, E. (1989) *Bull. Math. Biol.* **51**, 195-205.
16. Pomi, A., Mizraji, E., Lin, J. (2018) *Neural Comput.*, **30**, 3259-3280.



**DR. EDUARDO MIZRAJI**

Es Doctor en Medicina de la Universidad de la República, realizó estudios de posgrado en Matemáticas (Universidad de París V) y es Profesor Titular de Biofísica en la Facultad de Ciencias de la Universidad de la República.

Es Investigador Grado 5 del Programa de Investigación en las Ciencias Básicas (PEDECIBA) e Investigador Nivel III del Sistema Nacional de

Investigadores. Sus trabajos de investigación se han centrado primeramente en la enzimología y en las regulaciones alostéricas. Luego se enfocó en los modelos de redes neuronales y el procesamiento de la información por parte de los sistemas biológicos.

Ha publicado "El segundo secreto de la vida" (Ediciones Trilce, 1999), que trata de la evolución de las ideas que fundaron la biología actual. Además, es coautor de "Borges y la ciencia" (Eudeba, 1999), libro que indaga las relaciones entre las ciencias y la creación artística. Es autor del libro "En busca de las leyes del pensamiento" (Ediciones Trilce, 2010) que reflexiona sobre el laberíntico proceso desarrollado por la investigación científica buscando comprender la naturaleza del pensamiento humano. Este libro recibió el Premio Bartolomé Hidalgo 2010 en su categoría.

## Apéndice

### Modelo MWC: El Seminario de 1970

Se reproduce aquí la derivación del modelo MWC basada en la teoría abreviada descrita en el artículo de Blangy, Buc y Monod [7], complementada por el autor de este texto y presentada en un Seminario interno del Departamento de Bioquímica en 1970.

#### Postulados

- (i) La proteína enzimática es un oligómero que se presenta en dos formas que coexisten en equilibrio: una forma R (relajada) y una forma T (tensa).
- (ii) Los oligómeros constan de  $n$  protómeros; en una misma molécula, los  $n$  protómeros adoptan sólo una de las formas (R o T). No existen oligómeros híbridos.
- (iii) La relación entre los oligómeros T y R exentos de ligandos es constante. Anotaremos  $(TF_0)/(RF_0) = L_0$ , donde  $L_0$  es una constante termodinámica llamada "constante alostérica". Se trata, entonces de una constante de equilibrio entre los oligómeros vacíos.
- (iv) Cada protómero R o T tiene una probabilidad específica de unirse a un ligando F. Anotemos a estas probabilidades  $P_R$  y  $P_T$ . Estas probabilidades son independientes del hecho de que los protómeros se asocien en oligómeros y tampoco se ven afectadas por el grado de ocupación del oligómero por los ligandos F. A la vez, son una medida de la afinidad termodinámica del ligando F por los protómeros R y T, como consecuencia, los ligandos asociados a ciertos protómeros en un oligómero no modifican la afinidad de los restantes que en ese oligómero no forman complejos. Que en un oligómero formado por  $n$  protómeros existan 0, 1, 2, 3, ...,  $n$  moléculas de ligando F depende del azar.

#### Sistema MCM con un ligando

Un sustrato F forma con los protómeros de la enzima dos tipos de complejo: Un complejo RF y un complejo TF. Sean  $K_{RF}$  y  $K_{TF}$  las constantes de disociación de F para las forma R y T respectivamente.

Definamos los siguientes parámetros:

$$c = \frac{K_{RF}}{K_{TF}} \quad (\text{coeficiente de afinidad diferencial})$$

(F) = concentración de ligando libre

$$\alpha = \frac{(F)}{K_{RF}} \quad (\text{concentración 'normalizada' de F respecto a la forma R})$$

$$c\alpha = \frac{(F)}{K_{TF}} \quad (\text{concentración 'normalizada' de F respecto a la forma T})$$

$\bar{R}$  = Fracción de oligómeros en la conformación R

$$\bar{T} = 1 - \bar{R} .$$

En consecuencia,

$$\bar{R} = \frac{(R)}{(R) + (T)}$$

donde

$$(R) = (RF_0) + (RF_1) + \dots + (RF_n)$$

$$(T) = (TF_0) + (TF_1) + \dots + (TF_n) .$$

Las expresiones  $(RF_i)$  y  $(TF_i)$ ,  $i = 0, 1, \dots, n$ , representan las concentraciones de oligómeros con 0, 1, hasta n ligandos respectivamente.

$n(R)$  es la concentración total de la forma R expresada en equivalentes de protómeros (en el sentido de que cada protómero sólo puede unirse a una única molécula de F). Definiremos como  $(RF)$  la concentración, expresada en equivalentes, de protómeros con sustrato ligado. Por otra parte, definimos como  $(R_0)$  la concentración en equivalentes de protómeros R vacíos. Notar la diferencia con  $(RF_0)$ , que mide la concentración de oligómeros vacíos. Similares definiciones corresponden a la forma T.

Las ecuaciones de conservación son las siguientes:

$$n(R) = (R_0) + (RF) ,$$

$$n(T) = (T_0) + (TF) ,$$

$$(F_{total}) = (F) + (RF) + (TF) .$$

La frecuencia relativa (o probabilidad) de protómeros R unidos a F es.

$$P_{RF} = \frac{(RF)}{n(R)} = \frac{(R_0)(F)}{n(R) \cdot K_{RF}} = \frac{(R_0)}{n(R)} \alpha$$

Si  $P_{R_0}$  es la frecuencia relativa de protómeros carentes de ligando, entonces

$$P_{R_0} = \frac{(R_0)}{n(R)}$$

Al ser probabilidades complementarias, resulta

$$P_{R_0} + P_{RF} = \frac{(R_0)}{n(R)}(1 + \alpha) = 1$$

El mismo análisis para la forma T conduce a que

$$P_{T_0} + P_{TF} = \frac{(T_0)}{n(T)}(1 + c\alpha) = 1$$

La definición del modelo nos confronta a una distribución binomial, por lo que podemos afirmar que las probabilidades de tener oligómeros R y T de n subunidades conteniendo 0, 1, ... , n ligandos unidos, están dadas por los términos del desarrollo de los binomios de la izquierda de las siguientes ecuaciones:

$$\left(P_{R_0} + P_{RF}\right)^n = \left(\frac{(R_0)}{n(R)}\right)^n (1 + \alpha)^n = 1$$

y

$$\left(P_{T_0} + P_{TF}\right)^n = \left(\frac{(T_0)}{n(T)}\right)^n (1 + c\alpha)^n = 1.$$

Remarquemos que estas potencias son una indirecta forma de expresar el número 1. Aquí es entonces donde podemos disfrutar las virtudes de la multiplicación por la unidad.

Multiplicando numerador y denominador por los adecuados formatos del número 1 que producen estas distribuciones binomiales, podemos expresar la fracción  $\bar{R}$ , definida originalmente como  $\bar{R} = (R)/[(R) + (T)]$ , del modo siguiente:

$$\bar{R} = \frac{(R) \left(\frac{(R_0)}{n(R)}\right)^n (1 + \alpha)^n}{(R) \left(\frac{(R_0)}{n(R)}\right)^n (1 + \alpha)^n + (T) \left(\frac{(T_0)}{n(T)}\right)^n (1 + c\alpha)^n}$$

La fracción  $\bar{T}$  surge inmediatamente de la ecuación  $\bar{T} = 1 - \bar{R}$

El postulado (iii) impone que el cociente entre oligómeros de la forma T y R vacíos defina la constante alostérica. Esto conduce a la siguiente ecuación:

$$L_0 = \frac{(R) \left( \frac{(R_0)}{n(R)} \right)^n}{(T) \left( \frac{(T_0)}{n(T)} \right)^n}$$

En esta expresión, las potencias de n miden la probabilidad (frecuencia relativa) de oligómeros de n subunidades con sus n sitios vacíos. Esta imposición lleva a expresar las fracciones  $\bar{R}$  y  $\bar{T}$  de la forma siguiente:

$$\bar{R} = \frac{(1 + \alpha)^n}{(1 + \alpha)^n + L_0(1 + c\alpha)^n}$$

$$\bar{T} = \frac{L_0(1 + c\alpha)^n}{(1 + \alpha)^n + L_0(1 + c\alpha)^n}$$

La función fundamental en el desarrollo de la teoría es la llamada función de saturación  $\bar{Y}$ : esta función se define como la fracción de protómeros ocupados por el ligando F. Teniendo en cuenta las definiciones previas, resulta:

$$\bar{Y} = \frac{P_{RF}n(R) + P_{TF}n(T)}{n(R) + n(T)} = P_{RF} \frac{(R)}{(R) + (T)} + P_{TF} \frac{(T)}{(R) + (T)}$$

A partir de las definiciones de las probabilidades, tenemos estas formas de expresarlas:

$$P_{RF} = \frac{\left( \frac{(R_0)}{n(R)} \right) \alpha}{\left( \frac{(R_0)}{n(R)} \right) (1 + \alpha)} = \frac{\alpha}{1 + \alpha},$$

$$P_{TF} = \frac{\left( \frac{(T_0)}{n(T)} \right) c\alpha}{\left( \frac{(T_0)}{n(T)} \right) (1 + c\alpha)} = \frac{c\alpha}{1 + c\alpha}.$$

De aquí,

$$\bar{Y} = \frac{\alpha}{1 + \alpha} \bar{R} + \frac{c\alpha}{1 + c\alpha} \bar{T}$$

y de esto surge la ecuación final del modelo MWC:

$$\bar{Y} = \frac{\alpha(1 + \alpha)^{n-1} + L_0 c \alpha (1 + c\alpha)^{n-1}}{(1 + \alpha)^n + L_0 (1 + c\alpha)^n}$$