

ROBERTO MARCO Y EL SARCÓMERO DEL MÚSCULO DE VUELO (*)

John C. Sparrow

Departamento de Biología. Universidad de York (Reino Unido)

La larga lista de publicaciones de Roberto es la que esperaríamos de un científico de éxito con intereses muy variados no solo en biología sino en la historia y la filosofía que nos enseñan cómo gracias a la biología y la ciencia en general, podemos explorar el mundo en que vivimos. Sus diferentes intereses se discuten en otras partes de esta monografía. Recordando a Roberto, procuraré relatarles los resultados de nuestra colaboración científica sobre las proteínas del músculo de vuelo de la mosca de la fruta, *Drosophila*, y cómo llegamos hasta ellos. Esta historia científica fue el núcleo de nuestra relación.

Nuestro proyecto lidiaba con un problema muy concreto y generó, gracias a los experimentos realizados directamente por Roberto, una única publicación conjunta. Los catedráticos con pesadas cargas administrativas y docentes considerarán que su tiempo es demasiado valioso para emplearlo trabajando en la poyata. Roberto consideraba este problema biológico tan interesante y ajustado a sus habilidades técnicas que quiso emplearse en resolverlo personalmente.

La pregunta era la que cualquier bioquímico bien entrenado se haría sobre un complejo proteico, y Roberto era ese tipo de bioquímico gracias a sus trabajos previos con Arthur Kornberg en Stanford. El problema era averiguar la estequiometría de los componentes de un complejo biológico. En otras palabras, determinar cuántas copias de cada componente molecular están presentes en una unidad básica del complejo. Sin esta información no se pueden construir modelos fiables de su estructura y sin esos modelos no podemos comprender su función biológica.

El complejo que nos interesaba a Roberto y a mí se conoce como el sarcómero. Es la unidad contráctil básica de los músculos estriados en todo el Reino animal (Figura 1). Podría decirse que el sarcómero es el complejo molecular más grande en biología. Sus funciones son cruciales para cada una de las interacciones que establecemos con el mundo exterior.

La comprensión de la estructura molecular y la función del sarcómero que se alcanzaron durante la década de 1950 condujo a la hipótesis de filamentos deslizantes de modo que las interacciones entre los filamentos gruesos y los filamentos finos posibilitaban el deslizamiento entre ellos. Este movimiento consume ATP y se debe al motor molecular miosina integrado en los filamentos gruesos y unido periódicamente con el núcleo de actina-F de los filamentos finos. La conclusión de todos estos estudios fue que diversas proteínas se localizan dentro de una estructura ordenada y cómo este orden es el que permite al sarcómero producir y transmitir las fuerzas obtenidas en los múltiples motores de actomiosina. Además se determinó que la regulación de la contracción reside en el complejo troponina del filamento fino, existiendo una copia del complejo por cada siete monómeros de actina en este filamento. Es evidente que la estructura organizada del sarcómero tiene que deberse a una estequiometría bien controlada de las proteínas que lo componen.

¿Cómo decidió Roberto empezar a trabajar en la estequiometría proteica del sarcómero en el músculo de vuelo de *Drosophila*? Un buen científico es aquel que plantea los experimentos a partir de

* La traducción de este artículo al español ha sido realizada por Raúl Herranz. La versión original en inglés se puede encontrar en la página web de esta revista: www.encuentros-multidisciplinarios.org

una serie de premisas e ideas. No obstante, si el resultado difiere de lo esperado te puede arrastrar en una dirección diferente donde aparecen nuevas preguntas y nuevas oportunidades para explorar esas nuevas rutas. Roberto era muy consciente, por su bagaje estudiando la historia de la ciencia, de que esta ha sido la vía más fructífera en los últimos descubrimientos biocientíficos.

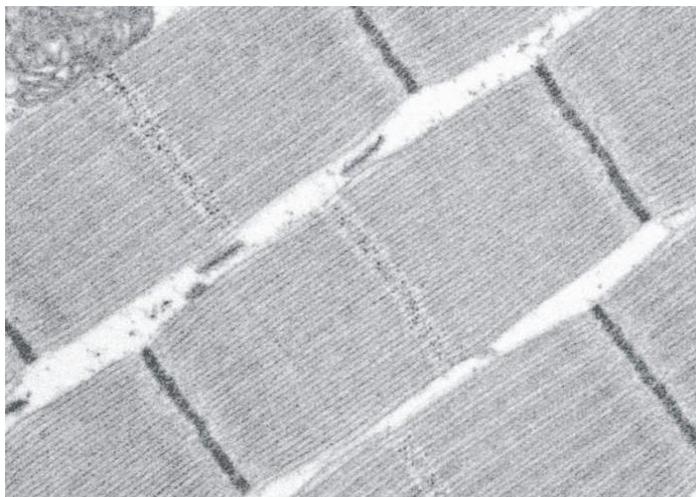


Figura 1. Un sarcómero del músculo indirecto de vuelo de Drosophila melanogaster, la mosca de la fruta. Las líneas oscuras, o discos Z definen los límites del sarcómero, la unidad contráctil mínima del músculo. Los filamentos gruesos y finos, cuya interacción produce la fuerza y la contracción, son fácilmente visibles con una distribución paralela y alterna.

Siguiendo las mejores tradiciones científicas, el origen de los intereses de Roberto por el músculo de *Drosophila* fue fortuito. En 1981 colaboró con Gines Morata en el complejo génico Bithorax de la mosca de la fruta, *Drosophila*, el especificador de la mayor parte del eje antero-posterior en el desarrollo corporal de la mosca.

En esa época, Roberto reclutó para su laboratorio en la UAM a una joven postdoctoral española, Margarita Cervera. Margarita había terminado una estancia postdoctoral en el MIT (Boston, EE.UU.), donde había estudiado las relaciones funcionales entre el citoesqueleto celular y los ARN mensajeros. Esta última molécula transfiere la información del ADN desde el núcleo celular hasta el citoplasma, donde se traduce la información genética a las distintas proteínas. Con el apoyo de Roberto, Margarita inició un proyecto dedicado a localizar filamentos intermedios y sus genes en *Drosophila*. En ese momento se pensaba que el citoesqueleto de todas las células animales contenía tres sistemas de filamentos basados en tres polímeros proteicos muy distintos. Eran los microtubulos (polímeros de tubulina), los filamentos intermedios (IF) y los microfilamentos (polímeros de actina, actina-F) que reaparecerán más tarde en nuestra historia.

El citoesqueleto es responsable de la forma, el movimiento, el comportamiento y el transporte de materiales en las células. Era típico de Roberto ser capaz de anticipar que los procesos genéticos que estudiaba con Gines Morata tendrían implicaciones en el desarrollo mediadas por el citoesqueleto, y de hecho esas conexiones permanecerían ocultas muchos años aún. En esos momentos había muchas pruebas de la existencia de microtubulos y microfilamentos en las células de *Drosophila*, pero no se había probado la existencia de filamentos intermedios en este organismo. Roberto estaba convencido, y muy pocos podrían habérselo discutido en esos momentos, de que estos filamentos tenían que existir también en *Drosophila*. Con las herramientas genéticas de las moscas, la función de esas proteínas podría desvelarse.

Por ello, el objetivo de las investigaciones de Margarita Cervera fue localizar y analizar los componentes proteicos de los filamentos intermedios empezando por la preparación de anticuerpos

específicos contra esos componentes. En 1981, los anticuerpos eran la mejor forma de “clonar” genes desconocidos y por tanto de estudiar sus funciones en las células y tejidos de distintos mutantes. Sin embargo, los anticuerpos generados por Margarita contra las posibles proteínas purificadas de los filamentos intermedios reaccionaban contra otras proteínas musculares, la paramiosina, projectina, troponina T y miosina. Así empezó una fructífera investigación sobre estas proteínas que proporcionaría varias publicaciones importantes a Margarita y Roberto (Vinos et al., 1991, 1992¹; Maroto et al., 1992, 1995, 1996²). Desde finales de 1984, cuando Margarita fue nombrada Profesora Adjunta Interina de la UAM (y después en 1987, Profesora Adjunta), con el apoyo absoluto de Roberto comenzó a buscar su propia financiación y estableció su principal interés en la expresión génica. Concretamente ella se centró en los genes musculares paramiosina y troponina T de *Drosophila* que acabarían caracterizando juntos.

Yo conocí a Margarita en una reunión en Cambridge (Reino Unido) titulada “*Cellular and Molecular Biology of Muscle Development*” en septiembre de 1989. Ella estaba presentando su trabajo en común con Roberto sobre la identificación y caracterización de la bautizada por ellos miotubulina, una de las proteínas musculares de *Drosophila* localizada con los anticuerpos generados contra las proteínas de los filamentos intermedios en *Drosophila*. Sandy Bernstein de la Universidad estatal de San Diego (EE.UU.) también estaba allí. El poster de Margarita hizo que Sandy se diera cuenta de que esa proteína era realmente la paramiosina, un componente muy importante del músculo de los insectos y una de las proteínas en las que trabajaba su grupo. Roberto y Margarita ya sospechaban que la miotubulina y la paramiosina eran la misma proteína. La consecuencia fue que publicaron rápidamente su trabajo (Vinos et al., 1991) denominándolas como miotubulina/paramiosina y mini-paramiosina, la primera cita sobre estas proteínas en *Drosophila*. Con excepción de una contribución a un congreso, no sería hasta 1992 (Becker et al., 1992)³ cuando Sandy Bernstein publicaría su primer trabajo sobre estas mismas proteínas.

En aquella época estaba planeando solicitar un proyecto a la Unión Europea junto a una colaboradora, la Dra. Belinda Bullard (entonces en el Laboratorio Europeo de Biología Molecular EMBL en Heidelberg). El objetivo del proyecto era establecer una red de investigación focalizada en la estructura y función del sarcómero muscular de *Drosophila*. Por tanto, fue una suerte para mí encontrarme a Margarita y conocer su trabajo con Roberto en este congreso. Parecían ser los colaboradores perfectos para este tipo de red. Yo ya conocía el trabajo de Alberto Ferrus (Instituto Cajal, Madrid) sobre la troponina I, otra proteína muscular de los músculos de vuelo de *Drosophila*. Poco después del congreso me ofrecí a viajar a Madrid durante tres días para conocer a Roberto y Alberto y discutir, con ellos y también con Margarita, mi propuesta de buscar financiación en la UE para una red de investigación dentro del programa de movilidad y recursos humanos de la Comunidad Europea.

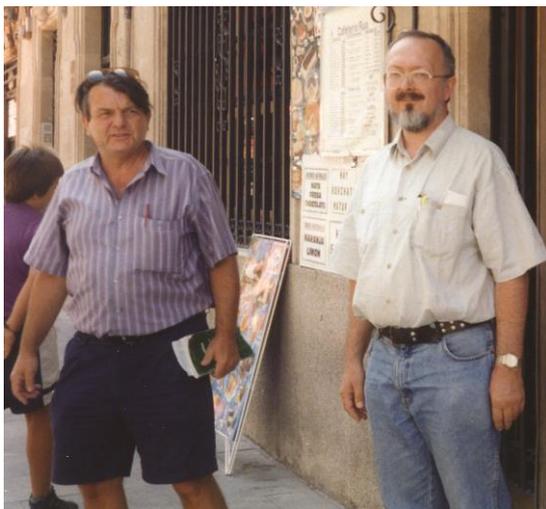
Nunca olvidaré esos tres días. Recibí una calurosa bienvenida y me trataron con generosa hospitalidad. Las discusiones científicas fueron muy amenas y motivadoras y no me dejaron dudas de incorporarles a nuestra aventura europea. Desde el principio disfruté mucho de las discusiones con

¹ Vinós, J., Domingo, A., Marco, R. and M. Cervera. (1991) Identification and characterization of *Drosophila melanogaster* paramyosin. J. Mol. Biol. 220, 685-700. Vinós, J., Maroto, M., Garesse, R., Marco, R. and M. Cervera. (1992) Mapping and complete coding sequence of the *Drosophila* paramyosin cDNA: Analysis of the developmental transcription pattern. Mol. Gen. Genet. 231, 385-394.

² Maroto, M., Vinós, J., Marco R. and M. Cervera. (1992) Autophosphorylating protein kinase activity in titin-like arthropod projectin. J. Mol. Biol., 224, 287-291. Maroto, M., Arredondo, J.J., San Román, M., Marco, R. and M. Cervera. (1995) Analysis of the paramyosin/piniparamyosin gene: Miniparamyosin is an independently transcribed, distinct paramyosin Isoform, widely distributed in invertebrates J. Biol. Chem. 270, 4375-4782. Maroto, M., Arredondo, J.J., Goulding, D., Marco, R., Bullard B. and M. Cervera (1996). *Drosophila* paramyosin/miniparamyosin gene products show a large diversity in quantity, localization and isoform pattern: A possible role in muscle maturation and function. J. Cell Biol. 134, 81-92.

³ Becker, K.D., O'Donnell, P.T., Heitz, J.M., Vito, M. and S.I. Bernstein. (1992). Analysis of *Drosophila* paramyosin: identification of a novel isoform which is restricted to a subset of adult muscles. J. Cell Biol. 116, 669-681.

Roberto. Era la segunda vez que estaba en España y Roberto estaba entusiasmado e interesado por dialogar sobre el estilo de vida español que tanto me intrigaba. También me di cuenta de su templanza y sentido del humor. Una tarde me llevaron a un buen restaurante cerca del edificio Cortez. Dado mi escaso conocimiento de la cocina española me dejé aconsejar por Roberto. Me propuso dos platos como aperitivo -*morcilla* y otro cuyo nombre olvidé, pero que me traducirían después como “tripas estilo madrileño”. Roberto declaró que me diría que había comido sólo cuando me los hubiera terminado. Roberto no consiguió el efecto deseado porque, para su desconocimiento, en la región del norte de Inglaterra en la que me crié era habitual comer “black pudding and tripes”⁴. Aun así, él acabaría riendo el último. La pierna de cordero asada es un plato típico en Inglaterra, así que me persuadió para que fuera sobre seguro eligiendo este plato principal. Seguro que mereció la pena esperar para ver mi cara al encontrarme en el plato una pierna de cordero entera, y no varias lonchas como yo esperaba. Afortunadamente, esta anécdota no evitó que siguiera sus consejos culinarios en los siguientes viajes a España.



Roberto Marco (izquierda) y John C. Sparrow (autor de este artículo) en Salamanca (1996)

Como resultado de mi visita a Madrid, el proyecto que se envió a la UE tuvo éxito. Formabamos la red Belinda Bullard (EMBL, Heidelberg), Margarita Cervera (UAM), Jean Lepault (CNRS, Gif-sur-Yvette), Alberto Ferrus (Instituto Cajal, Madrid), Roberto (UAM) y yo (Universidad de York, Reino Unido). Esta red fue muy productiva. Para todos nosotros fue excitante y novedoso trabajar en una red financiada. Todos disfrutamos de las colaboraciones, haciendo amigos y visitándonos entre nosotros y a miembros de nuestros grupos en Madrid, Paris y York.

Una vez recibida la financiación, Roberto aceptó mi invitación para visitar mi laboratorio en la Universidad de York, acompañado por su familia, durante dos veranos. Nuestro objetivo era determinar la estructura y función del filamento fino del músculo de vuelo de *Drosophila*.

En el músculo esquelético de los vertebrados, así como en el de humanos, el filamento fino es un núcleo helicoidal de actina-F sobre el que se ensambla el complejo tropomiosina/troponina. Este complejo es el que regula la contracción por el ion calcio. La hélice de actina-F es una repetición de 7 monómeros de actina. A cada una de ellas se une un único dímero (de polipéptidos idénticos) de tropomiosina y sobre ellos se acopla el complejo troponina, que contiene una molécula de cada una de las troponinas I, C y T. Por ello, la unidad de filamento fino posee una estequiometría bien definida de 7 actinas + 2 tropomiosinas + 1 de cada troponina I, C y T.

En el músculo de vuelo de *Drosophila*, objetivo de nuestro interés y del de nuestra red, la estequiometría del filamento fino es más compleja. Yo había trabajado anteriormente con la artrina,

⁴ Nota del traductor: Morcilla y callos.

una proteína exclusiva del músculo de vuelo de algunos insectos, entre ellos *Drosophila* (Ball et al., 1987)⁵. Habíamos demostrado que la artrina era un subgrupo de monómeros de actina del filamento fino que se habían modificado por conjugación con otra proteína, la ubiquitina. Nuestros estudios preliminares indicaban que esto pasaba con solo una de cada siete actinas en la repetición básica. Sin embargo, era fundamental establecerlo con precisión puesto que podría indicar una interacción con el complejo troponina. Otros grupos encontraron hasta tres tipos de tropomiosinas que se expresan en los músculos de vuelo de *Drosophila*. Una de ellas era similar a la del músculo de vertebrados, pero las otras dos tropomiosinas en *Drosophila* (conocidas como TmH33 and TmH34 (del inglés ‘heavy’,) eran al menos el doble de grandes. La mitad de la molécula, tanto de la TmH33 como de la 34, posee una secuencia de aminoácidos típica del resto de las tropomiosinas, pero además contienen una larga secuencia repetida sin homología con otras proteínas excepto por una inserción poco habitual en la troponina I de los músculos de vuelo de la chinche de agua, *Lethocerus*.

Por lo tanto el problema que Roberto quería desvelar era qué estequiometría permitía ensamblar estas proteínas en el filamento fino y si estos datos podían conducirnos a desvelar como se regula la contracción en estos músculos. En contraste con el músculo esquelético humano en el que la contracción se regula por la liberación de iones calcio regulados por un impulso nervioso, el músculo de vuelo de *Drosophila* requiere tanto una liberación de calcio como la aplicación de un estiramiento para activarse. El mecanismo de esta activación por estiramiento sigue siendo esencialmente desconocido, pero Roberto y yo (entre otros) pensábamos que estas tropomiosinas pesadas estaban implicadas. Así que la primera pregunta era si estas tres tropomiosinas forman homodímeros o heterodímeros entre ellas. Y en ese caso, ¿qué combinaciones son posibles? Conocer la respuesta a estas preguntas conduciría a nuevas claves para entender el mecanismo de activación por estiramiento en el músculo de vuelo de los insectos.

Para completar los experimentos de Roberto, ambos diseccionamos los músculos de vuelo de muchas *Drosophilas* y entonces él separó las proteínas musculares por electroforesis, las tiñó y cuantificó la tinción de las bandas correspondientes a cada una de ellas. Parece fácil, pero incluso Roberto se dio cuenta rápidamente de que había muchos artefactos en los métodos y el análisis que debían ser corregidos. Es una prueba de su determinación y de su suficiencia como bioquímico que, tras un largo periodo de tiempo, él consiguió procesar la información hasta conseguir un análisis que ofreciera nuevas evidencias y satisficiera a la vez sus elevados requerimientos de calidad científica.

En este trabajo confirmamos que cada 7 actinas encontramos una artrina, la actina ubiquitinada, apoyando que exista una artrina en cada una de las repeticiones básicas del filamento fino. Los resultados confirmaron la existencia de una única molécula de las troponinas I, C y T por cada repetición básica.

Los datos de las tres tropomiosinas eran coherentes con la existencia de dos moléculas de tropomiosina por repetición del filamento fino, pero solo considerando las tres tropomiosinas juntas. Esto prueba que existen dos tropomiosinas por repetición, pero abre la cuestión de donde hay homodímeros de la tropomiosina convencional, de las tropomiosinas pesadas y dónde heterodímeros de cualquiera de ellas. Los datos cuantitativos no permitían resolver la cuestión, la tropomiosina y las dos tropomiosinas pesadas estaban presentes en cantidades comparables.

A estas alturas Roberto se había empezado a interesar por la evolución de estas proteínas y, comparando secuencias, había localizado un residuo cisteína cerca del final de las tres tropomiosinas. A un bioquímico de raza como Roberto las propiedades de este aminoácido le daban la oportunidad de comprobar si había interacciones proteína-proteína entre las tropomiosinas porque dos cisteínas se pueden utilizar para unir dos cadenas polipeptídicas o separarlas según las condiciones químicas que se impongan. Roberto pensó que esta cisteína podría ser la que formara los dímeros en la mosca. Si fuera

⁵ Ball, E., Karlik, C.C., Beall, C.J., Saville, D.L., Sparrow, J.C., Bullard, B. and E.A. Fyrberg (1987) Arthrin, a myofibrillar protein of insect flight muscle, is an actin-ubiquitin conjugate. *Cell* **51**, 221-228.

el caso, los dímeros podrían ser aislados y separados en condiciones que permitieran discriminar entre homo y heterodímeros de las tropomiosinas en estos músculos. Con estos experimentos fue capaz de concluir que las tropomiosinas pesadas se integraban en el músculo de los filamentos finos como dímeros. Nuestra teoría era que cada repetición básica debía ser funcionalmente equivalente, y contener por tanto un heterodímero de tropomiosina convencional y una de las pesadas (TmH33 or TmH34). Sin embargo, los resultados desmintieron la hipótesis – Roberto detectó estos heterodímeros pero también homodímeros de tropomiosina y de TmH. La conclusión principal es que todas las unidades básicas no pueden ser idénticas. Estos resultados tienen consecuencias en los modelos estructurales del filamento fino y en cómo esta estructura regula la contracción muscular en respuesta al calcio y al estiramiento. Roberto y yo publicamos este trabajo junto con algunos de sus estudiantes en 2006 (Mateos et al., 2006)⁶.

Las preguntas que surgieron de esta investigación siguen resolviéndose. Belinda Bullard ha confirmado, gracias a tinciones con inmuno-oro de la artrina en el músculo de vuelo de *Drosophila*, que no hay más de una artrina por cada subunidad básica de filamento fino, confirmando los resultados estequiométricos de Roberto (Burgess et al., 2004)⁷. El laboratorio de Roberto también informó de la expresión de dos genes troponina C en los músculos indirectos de vuelo de *Drosophila* aunque solo uno de ellos era exclusivo de este tejido (Herranz et al., 2004)⁸. Belinda ha confirmado que existen dos tipos de troponina C en el músculo de vuelo de los insectos (Agianian et al., 2004)⁹. Una de ellas activa la contracción muscular por unión del calcio mientras que la otra parece activarse únicamente al aplicarse un estiramiento. La primera constituye un 10% y la segunda un 90% de la troponina C del filamento fino. Se concluye de ello que, como existe un único complejo troponina por cada repetición, estas repeticiones no pueden ser idénticas, tal y como Roberto dedujo con sus experimentos con tropomiosinas. La relación entre los hallazgos de Roberto en tropomiosina/TmH y los resultados de Belinda con la troponina C aún no se ha establecido claramente. El punto común es que la repetición cada 7 actinas no puede ser idéntica a lo largo de todo el filamento fino, al menos en lo que se refiere al tipo de troponina C o tropomiosina incluida. Por tanto, el mecanismo de activación de cada unidad mínima no puede ser el mismo. Estos resultados han proporcionado pruebas que serán parte de la solución final a la cuestión que nos hicimos hace tanto tiempo, y también al mecanismo que controla la activación por estiramiento en el músculo de los insectos.

Otra cuestión que preocupó a Roberto en esa etapa fue el estado de fosforilación de las proteínas del músculo de vuelo de *Drosophila*, incluidos los componentes del complejo troponina/tropomiosina. Publicamos algunos de esos resultados en nuestro trabajo conjunto (Mateos et al., 2005).

Motivado por los resultados experimentales que he descrito, Roberto extendió su interés por la evolución de las proteínas del filamento fino en *Drosophila*. El principal objetivo de estos estudios era probar la relación entre estas proteínas y su función. Estos estudios, en gran parte desarrollados por su último estudiante Raúl Herranz, condujeron a dos artículos importantes (Herranz et al., 2005a, 2005b)¹⁰, en uno de los cuales se intentó explorar la relación funcional entre las troponinas I y T por medio de su co-evolución (Herranz et al., 2005b).

⁶ Mateos, J., Herranz, R., Domingo, A., Sparrow, J. and R. Marco, (2006) The structural role of high molecular weight tropomyosins in dipteran indirect flight muscle and the effect of phosphorylation. *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 27,189-201.

⁷ Burgess, S., Walker, M., Knight, P.J., Sparrow, J.C., Schmitz, S., Offer, G., Bullard, B., Leonard, K., Holt, J. and J. Trinick. (2004) Structural studies of arthrin: monoubiquitinated actin. *J. Mol. Biol.* 341, 1161-1173.

⁸ Herranz, R., Diaz-Castillo, C., Nguyen, T.P., Lovato, T.L., Cripps, R.M. and R. Marco. (2004) Expression patterns of the whole troponin C gene repertoire during *Drosophila* development. *Gene Express. Patterns* 4, 183-190.

⁹ Agianian, B., Krzic, U., Qiu, F., Linke, W.A., Leonard, K. and B. Bullard. (2004) A troponin switch that regulates muscle contraction by stretch instead of calcium. *EMBO J.* 232, 772-779.

¹⁰ Herranz, R., Mateos, J. and R. Marco. (2005a) Diversification and independent evolution of troponin C genes in insects. *J. Mol. Evolution* 60:31-44. Herranz, R., Mateos, J., Mas, J.A., Garcia-Zaragoza, E., Cervera, M., and R. Marco. (2005b) The coevolution of insect muscle TpnT and TpnI gene isoforms. *Mol. Biol. Evolution* 22, 2231-2242.

Desde 1981 hasta su fallecimiento, la biología del músculo de *Drosophila* fue uno de los principales objetivos científicos de Roberto. Sin embargo, él era polifacético y demostró un amplio interés por múltiples asuntos, incluido un entusiasmo y dedicación absolutos al estudio de los efectos de los vuelos espaciales sobre los sistemas biológicos, utilizando *Drosophila* como modelo. Pero es evidente que no por ello realizó contribuciones menos importantes en el estudio del músculo de vuelo de los insectos.

Roberto y yo publicamos un solo artículo conjunto en 15 años. Si lo usamos como medida cuantitativa claramente infravaloraríamos la intensidad de nuestra relación. En este periodo nos reunimos en muchas ocasiones incluso, con nuestras familias, compartimos vacaciones en España, Escocia y Gales. En estas ocasiones solíamos debatir sobre los aspectos que nos interesaban a ambos de la biología del músculo de los insectos. Nosotros discutimos nuestros resultados científicos en profundidad y con frecuencia él era uno de mis críticos más duros. No obstante, siempre entendí sus comentarios como constructivos, generosos y motivadores.

Ambos teníamos un interés común en biología, historia de la ciencia, filosofía y política. En todas estas disciplinas le describiría como extremadamente erudito y nuestras conversaciones, que manteníamos durante largos paseos, solían acabar bien entrada la noche. Siempre me quedará su entusiasmo por el conocimiento, su hospitalidad y su generosidad en la amistad, pero sobretodo recordaré como amaba a su país, España.



Roberto Marco en la cima de Ben Lawers, una de las montañas de 'Munro' en las Tierras Altas de Escocia (septiembre de 2005)

Nuestra principal aventura juntos, durante unas vacaciones con nuestras esposas en las Tierras Altas de Escocia en 2005, fue escalar en un solo día dos 'Munros', unas montañas escocesas conocidas por no superar los 3.000 pies de altitud (914 metros). El nombre de 'Munros' se debe a Sir Hugh Munro que, en la década de 1890, censó con precisión todas las montañas escocesas escalándolas una por una. La foto de más arriba muestra a Roberto en la cima de Ben Lawers. Creo que, considerando el extremo cuidado con el que determinó la estequiometría de las proteínas del músculo de vuelo, habría disfrutado del paralelismo con Sir Hugh Munro, quien fue recordado por su compromiso con la precisión al determinar la altitud de estas montañas.

Fué un honor haber conocido a Roberto y haberle podido llamar colaborador y amigo.