

Dr. Juan Miguel Castagnino De la fabricación de equipos caseros a la electroforesis capilar

Alcira Nesse^{1*}, Silvana Gionco^{2*}

Relación del Dr. Castagnino con la electroforesis

Si en la Argentina se hace referencia a “electroforesis” surge inmediatamente el nombre de Juan Miguel Castagnino. Hay que hablar de su fascinación por la técnica, su interés por incorporarla y promocionarla como metodología de elección en los análisis de material biológico, su curiosidad personal en el tema y, al mismo tiempo, la necesidad de transmitir sus conocimientos a quienes se encontraran en derredor, ya fueran alumnos, discípulos o colaboradores, tanto en la Universidad como en el ámbito profesional.

Su objetivo: fraccionamiento proteico del suero humano

Quien repasa la trayectoria del Dr. Castagnino encuentra un especial interés puesto en el fraccionamiento proteico del suero sanguíneo, así como en la posibilidad del aporte analítico al diagnóstico de enfermedades. Ya en 1956, su trabajo de tesis “La electroforesis sobre papel de filtro y su aplicación al fraccionamiento del suero sanguíneo”, realizado para optar al título de Doctor en Química, muestra su relación con la aplicación de esta metodología (1). Es más, construyó su propios equipos, fuente y cuba electroforética, para desarrollar el trabajo (Fig. 1). Y no solo eso, en la sección experimental el autor describe “las instrucciones para construir una fuente de tensión empleando accesorios utili-

zados corrientemente en la fabricación de aparatos de radio” y, además indica “que se detalla la construcción de la cuba destinada a contener las tiras de papel de filtro, utilizando recipientes de material plástico de los destinados comercialmente a contener carnes, etc.” (1).

A medida que las técnicas electroforéticas fueron evolucionando y aparecieron distintos soportes comerciales, nuevas actividades fueron incorporadas en las materias del Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales en el que Castagnino se desempeñaba como Profesor Titular. Más aún, en su interés por aportar también sus conocimientos a profesionales egresados de otras Instituciones creó un curso para graduados sobre “Técnicas Electroforéticas”. Estas actividades despertaron el interés en sus colaboradores. Una de las autoras de esta semblanza, Alcira Nesse, al ser incorporada como ayudante del curso, fue cautivada por el aprendizaje de las técnicas y el enfoque fisicoquímico de los fundamentos; era la forma de aplicar muchos de los conceptos adquiridos durante la Licenciatura. A ello le siguió la guía del Profesor en el aprendizaje de electroforesis a alto voltaje para detectar aminoácidos en recién nacidos y, posteriormente, los desafíos para el desarrollo de electroforesis en geles de poliacrilamida en tubo y, luego, en placas de distinto tamaño para aplicarlos en distintos proyectos organizados por el Dr. Castagnino, siempre para el análisis de muestras biológicas. El interés no decayó, más bien se fue acrecentando y se incorporaron nuevos actores. Por eso, el curso de posgrado, hasta hoy único en la Argentina, continúa con la labor iniciada por el Dr. Castagnino bajo la dirección de las Dras. Alcira Nesse y Daniela Vittori.

El Dr. Castagnino estaba constantemente en contacto con distintos grupos de trabajo de investigación, que incluían también centros de diagnóstico y clínicas. Una vez iniciada la trayectoria analítica con electroforesis capilar, comenzó a trabajar para determinar los perfiles proteicos de distintas muestras biológicas desde sueros, orinas, lágrimas, saliva, líquido cefalorraquídeo, líquido de punción pleural, líquido de diálisis, líquido de punción del globo ocular, líquidos de

¹ Doctora en Ciencias Químicas, Universidad de Buenos Aires. anesse@qb.fcen.uba.ar

² Licenciada en Ciencias Químicas, Universidad de Buenos Aires. sgionco@qb.fcen.uba.ar

* Universidad de Buenos Aires. Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Instituto del Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN). Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Buenos Aires, Argentina.

procesos inflamatorios y muchas otras cuyo análisis pudiera aportar información para el diagnóstico clínico. El objetivo era recabar información para poder determinar un “perfil proteico normal” de individuos sanos en cada medio biológico y así diferenciarlo de aquellos perfiles asociados a distintas patologías.

Llegada de la electroforesis capilar

El Dr. Castagnino fue un pionero en el desarrollo en el país de la técnica de electroforesis capilar con aplicación en bioquímica clínica.

Dada la profusa bibliografía sobre el tema, resulta innecesario describir aquí las características de la técnica de electroforesis capilar, así como los principios en los que se basan su desarrollo y funcionamiento. Para conocer sus aportes se recomienda leer, entre otros, el artículo que constituye una adaptación de la conferencia presentada por su autor, el Dr. Castagnino, en el Congreso de CUBRA 1997, en la ciudad de San Miguel de Tucumán (2).

La electroforesis capilar es una herramienta bioquímica muy apropiada para su aplicación en el análisis de muestras biológicas y ha ido reemplazando muchos métodos del laboratorio clínico convencional, ya que es compatible con medios acuosos y adecuada para la separación de compuestos de gran polaridad, iónicos o ionizables, requisitos que se ajustan a la mayoría de los metabolitos encontrados en fluidos biológicos.

Creemos importante mostrar aquí, el aporte a las Áreas de Biomedicina y Farmacología realizado desde el laboratorio de Análisis Clínicos del Dr. Castagnino mediante la generación de protocolos analíticos desarrollados por la técnica de electroforesis capilar.

Lejos quedaron la fabricación de fuentes de poder y cubas para electroforesis básicas utilizadas en los inicios de su carrera. En su permanente afán de actualización, adquirió un equipo de electroforesis capilar (Fig. 1) para su laboratorio de análisis clínicos de alta complejidad y, después de que el personal avanzó en el conocimiento de esta nueva tecnología, los análisis fueron enfocados, principalmente, al estudio de proteínas.

Entre los objetivos de la aplicación clínica de la Química Analítica se encuentra la estandarización de métodos de

análisis rápidos y eficaces para la determinación de metabolitos endógenos de interés clínico en fluidos biológicos. En ese contexto, y con el objetivo de poder implementar técnicas de análisis se estudió la aplicación de electroforesis capilar a matrices complejas como son las biológicas, donde se requiere el desarrollo de procedimientos de extracción, limpieza y preconcentración para favorecer la detección y cuantificación de los analitos y para preservar el equipo instrumental.

Así, se incorporaron en el laboratorio de análisis clínicos del Dr. Castagnino otras técnicas, como la extracción en fase sólida (SPE) y la ultrafiltración a través de membranas de cut-off definidos. De esta manera, pudieron implementarse varias metodologías adaptadas para el análisis de muestras biológicas de pacientes, que fueron adoptadas, luego, como análisis de rutina. Entre ellas, podemos mencionar:

- Proteinograma en suero
- Proteinograma en orina
- Electroforesis de hemoglobinas
- Cuantificación de HbA2
- Proteinuria de Bence-Jones
- Bandas oligoclonales en líquido céfalorraquídeo
- Determinación de ácido hipúrico en orina
- Determinación de flúor en muestras de agua

En la actualidad, la electroforesis capilar permite una medida rápida y precisa para el diagnóstico y seguimiento de varias enfermedades crónicas y se utiliza de forma rutinaria en laboratorios clínicos para la detección de anomalías proteicas en suero y otros fluidos.

La mayoría de estos compuestos de interés carecen de especificidad como marcadores, por lo que no pueden usarse como prueba única de diagnóstico; en cambio, son de utilidad para el diagnóstico precoz de ciertas enfermedades muchas veces detectadas como hallazgos en análisis de rutina, en el control de la eficacia de un tratamiento o una terapia específica y en el seguimiento de recurrencias post-tratamiento.

La electroforesis capilar como tecnología de punta nos representa un reto hoy en día, el acceso y la difusión es fundamental para que el personal médico y el personal del laboratorio conozcan la utilidad e interpretación de esta técnica.

El desarrollo de la electroforesis capilar en el Laboratorio de Alta Complejidad bajo la guía del Dr. Castagnino resultó



Figura 1. Equipo construido por el Dr. Castagnino para realizar las experiencias correspondientes a su Tesis de Doctorado (izquierda). Equipo de Electroforesis Capilar del STA-IQUIBICEN – CONICET (derecha).

una influencia trascendental en la formación profesional de otra de las autoras de esta semblanza; la experiencia adquirida por Silvana Gionco le permitió poner en funcionamiento el Servicio Tecnológico de Alto Nivel (STAN-CONICET) que se encuentra en el Instituto del Departamento de Química Biológica de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales (IQUIBICEN-CONICET-UBA) y constituye una importante herramienta analítica en las áreas científica, clínica y farmacológica.

Las autoras celebran haber recibido el impacto de su entusiasmo por el conocimiento de las técnicas electroforéticas, así como de la necesidad de buscar mecanismos apropiados para su aplicación, especialmente en muestras biológicas.

Al revisar, ahora, la actuación del Dr. Castagnino podemos decir que su personalidad fue la que inspiró a varias generaciones de investigadores en el campo de la electroforesis. Era una de esas personas que trataban de introducir un cuadrado en un círculo con el lado del cuadrado mayor que el diámetro del círculo e, inexplicablemente, muchas veces lo lograba. Entusiasta y medido, soñador y realista a

la vez, una energía envidiable que lo acompañó hasta sus últimos días, ha sido una verdadera luz en el camino que lo llevó desde la electroforesis en papel hasta la electroforesis capilar. Para él no había imposibles, solo escollos a superar.

Juan Miguel Castagnino, una de esas personas que cuando la crearon rompieron el molde. Solo nos queda recordarlo con admiración por su constante empuje y por su persistente defensa de la Bioquímica Clínica en la carrera de Química y el creativo aporte a las técnicas y a la difusión de la electroforesis.

Referencias bibliográficas

1. Castagnino JM. La electroforesis sobre papel de filtro y su aplicación al fraccionamiento del suero sanguíneo. [Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Químicas, Biblioteca Central Luis F. Leloir, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires]; 1956.
2. Castagnino JM. Electroforesis capilar. Acta Bioquím Clín Latinoam 1999; 33: 297-329.