

Conferencia: A propósito de los 150 años del nacimiento de Paul Ehrlich

PAUL EHRLICH: DE LAS TINCIONES A LAS BALAS MÁGICAS

AA Dr. Oscar Pamo Reyna

Este año se conmemoró el sesquicentenario del nacimiento de Paul Ehrlich, una de las mentes más lúcidas y sobresaliente de la medicina germana y universal. Le tocó vivir una época en que los descubrimientos científicos se sucedieron de manera acelerada y a él le cupo, precisamente, ser uno de los protagonistas en lo concerniente a las tinciones biológicas, la respuesta inmune humoral y la quimioterapia.

Paul Ehrlich nació el 14 de marzo de 1854 en la ciudad de Strehlen, Silesia, de la Prusia Oriental, que ahora es la ciudad de Stzrlin, Polonia. Hijo de Ismail Ehrlich, propietario de una destilería y comercio de lotería, superintendente de la comunidad judía, y de Rosa Weigert (1-3).

Entre 1864 y 1872 realizó sus estudios en la escuela de Breslau, hoy Wroclaw, Polonia. Con un rendimiento muy encima del promedio, gustó de las matemáticas y el Latín mas no así de la gramática alemana.

Siguió un curso introductorio de ciencias naturales en la Universidad de Breslau, en 1872, que no le satisfizo. Durante sus estudios, Ehrlich recibió las primeras ideas para usar sustancias químicas en la tinción de los tejidos de parte de su primo Karl Weigert¹, nueve años mayor que él, notable patólogo y pionero del uso de la anilina para las tinciones biológicas. La anilina había sido

descubierta por W. H. Perkin en 1853 y Ehrlich mostró un inusitado interés por las propiedades de esta sustancia que era utilizada como colorante de las células y los tejidos.

Continuó sus estudios durante tres semestres en la Universidad de Strassburg, donde conoció al anatomista Wilhelm Waldeyer Hartz² quien lo impresionó por sus conocimientos clínicos y con quien estableció una relación amical. Ya por esta época, Ehrlich realizaba sus propios preparados tintoriales con anilina de tejidos biológicos. En Strassburg quedó fascinado por la química a pesar de no haber seguido cursos formales de ella. Allí logró identificar plomo en los tejidos utilizando una coloración de fucsina. Esto lo llevó a asumir que algunos tejidos tenían una afinidad específica por ciertas sustancias químicas.

Luego de aprobar los exámenes, regresó a continuar sus estudios de medicina a Breslau. Hizo un semestre en el Instituto de Fisiología de Freiburg im Breisgau y terminó en Leipzig en 1878. Pero, en 1877 había publicado su primer trabajo sobre la acción selectiva de los colorantes en las células y los tejidos (*Beiträge sur Kenntnis der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in der mikroskopischen Technik*).

En 1878, Ehrlich se graduó en la Facultad de Medicina de la Universidad de Leipzig con la tesis *Contribución a la teoría y práctica de las tinciones histológicas (Beiträge sur Theorie und Praxis der histologischen Färbung)*. En ella postuló que las tinciones de los tejidos biológicos utilizando colorantes tenían como sustento a las reacciones químicas. También hizo una descripción de lo que serían las *células cebadas*, las que describió como unas células grandes con gránulos basófilos y las denominó *mast cells* para distinguirlas de las células redondas o *plasma cells* que Waldeyer había descrito en los tejidos. El original de

¹ Karl Weigert (1845-1904). Pionero de las tinciones de bacterias y de tejidos. Logró tinciones para la vaina de mielina (1884) y las fibras elásticas (1898). Describió la anatomía patológica de la glomerulonefritis de Bright (1879) y del infarto de miocardio (1880). Correlacionó la miastenia gravis con el timo (1901).

² Heinrich Wilhelm Gottfried Waldeyer Hartz (1836-1921). Histólogo y patólogo, profesor de anatomía patológica en Breslau, Strassburg y Berlín. Diferenció las neoplasias carcinomas de los sarcomas. Sugirió los términos cromosomas y neurona. En 1870 describió el epitelio germinal.

dicha tesis se perdería como consecuencia de un bombardeo aéreo sobre la ciudad de Leipzig en 1943.

En 1878, Ehrlich empezó a trabajar como médico adjunto del profesor Friedrich von Frerich (1819-1885), notable médico clínico, en el Hospital de la Charité de Berlín. Frerich estuvo muy interesado en la patología experimental y animó a Ehrlich para que continué con sus investigaciones histológicas y bioquímicas a la vez que ganaba experiencia en los problemas diagnósticos y de tratamiento.

Allí continuó con su trabajo y demostró que todos los colorantes empleados pueden ser clasificados como ácidos, básicos o neutros. Asimismo empezó a colorear las células sanguíneas distinguiéndolas por las tinciones de sus gránulos. De acuerdo a las características tintoriales de dichos gránulos, Ehrlich definió a los neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, eritrocitos y reticulocitos. Asimismo, logró diferenciar a las células de la leucemia linfocítica de la leucemia mielocítica y describió el primer caso de anemia aplásica. De esta manera, Ehrlich se convirtió en pionero de los estudios hematológicos a través de sus ensayos de tinciones (4).

Ante el descubrimiento de las bacterias como causantes de enfermedades, Ehrlich decidió incursionar en la tinción del bacilo tuberculoso recientemente descubierto por Koch^{3,4}. En 1882, Ehrlich consiguió teñir al bacilo

tuberculoso, basándose en que la dificultad para teñirlo con colorantes acuosos podía ser superada empleando colorantes básicos en una solución oleosa de anilina, la que penetraba la cubierta del bacilo y no decoloraba con los ácidos, método que después sería perfeccionado por Ziehl y Neelsen⁵. Así, proveyó a la medicina de una de las armas más eficaces para el diagnóstico de la enfermedad. La importancia de este descubrimiento fue mucho mayor si consideramos que sirvió como idea para que otros como Gram⁶ lograran, poco después, hallar tinciones para identificar a las diversas bacterias comunes.

Ingresó a la docencia en la Facultad de Medicina de la Universidad de Berlín en 1882.

En 1883, Ehrlich contrajo matrimonio con Hedwig Pincus, de diecinueve años e hija de un próspero industrial silesiano, y con quien tendría dos hijas: Stephanie (1884) y Marianne (1886).

En 1887, por su trabajo *La necesidad del organismo por el oxígeno. Un estudio analítico del color (Das Sauerstoffbedürfniss des Organismus. Eine farbenanalytische Studie, 1885)*, Ehrlich ganó el Premio Tiedemann y fue nombrado profesor invitado de medicina interna de la Universidad de Berlín. En dicho trabajo, que el mismo Ehrlich consideró el mejor de sus 37 trabajos publicados entre 1879 y 1883, utilizó los colorantes azul alizarina y azul indofenol y demostró las propiedades reductoras del protoplasma vivo, lo que le permitió clasificar a los tejidos según sus avidez por el oxígeno.

En 1885, Ehrlich empezó a experimentar con el azul de metileno inyectado a ranas para después examinar los tejidos, notando la gran afinidad del tejido nervioso por este colorante. Así, Ehrlich fue pionero en las *tinciones vitales* pues hasta entonces se teñían tejidos de cadáveres. Ehrlich empleó el azul de metileno para teñir células ganglionares, neuronas y terminaciones nerviosas; y, luego, con Arthur Lippmann intentó tratar las neuralgias con este colorante.

A la muerte de Frerich, en 1885, le sucedió Karl Gerhardt, de quien no obtuvo muchas facilidades para seguir con sus pesquisas y más bien le exigía que cumpla con sus obligaciones rutinarias. Ehrlich renunció a este trabajo en 1887.

Al año siguiente, Ehrlich enfermó de tuberculosis, se dice que la adquirió en su laboratorio, y decidió hacer un viaje de descanso para curarse. Se fue al Egipto y otros países, entre 1888 y 1889, para regresar completamente curado a Berlín y le fue administrada la *tuberculina* de Koch⁷ que era recomendada como un novísimo tratamiento.

³ Heinrich Hermann Robert Koch (1843-1910). Pionero de la bacteriología. Profesor de la Universidad de Berlín. Descubrió al agente causal del ántrax o carbunco (1876), tinciones de bacterias (1877), desarrolló los medios de cultivos e introdujo el agar como nutriente (1881), descubrió el bacilo tuberculoso (1882), descubrió el vibrión cólico (1883) y enunció sus postulados para demostrar la infectividad de un organismo vivo. Recibió el Premio Nobel de Medicina en 1905.

⁴ Los primeros intentos de tinciones de bacterias fueron realizadas por Wilhelm Friedrich Gleichen hacia 1778 empleando carmin e indigo hacia 1778. Carl Weigert obtuvo muy buenos preparados hacia 1875. Koch realizó tinciones bacterianas con anilina en 1877. Y, Ehrlich logró teñir a las bacterias con fucsina notando su resistencia a la decoloración.

⁵ Franz Ziehl (1857-1926) y Friedrich Karl Adolf Neelsen (1854-1894) confirmaron lo observado por Ehrlich y afinaron el procedimiento de tinción con resistencia a la decoloración ácida de las micobacterias. Esta propiedad fue estudiada posteriormente por Klebs, Koch y Tamura. Este último, en 1913, logró demostrar que dicha propiedad era debida a la sustancia alcohólica que denominó mykol.

⁶ Christian Joachim Gram (1853-1938). Médico danés. Hacia 1883 se encontraba trabajando con la doble tinción de tejidos renales y observó que la doble coloración de las bacterias no decoloraba con el alcohol.

⁷ En 1890, Koch anunció haber hallado una sustancia que detenía el crecimiento del bacilo tuberculoso, la tuberculina. Premiado y aclamado Koch anticipadamente, un año más tarde miles de tuberculosos habían recibido la tuberculina de manera no sistemática y se demostró después que no era útil y, más bien, podía ser dañino para los enfermos. En 1891, Koch se vio obligado a revelar que su tuberculina no era sino un extracto glicerinado de bacilos tuberculosos.

En Berlín, Ehrlich montó un pequeño laboratorio privado en Steglitzerstrasse con la subvención de su suegro para continuar con sus investigaciones sin mayores exigencias y ataduras asistenciales y docentes.

En 1890, Koch necesitaba de alguien para trabajar con su *tuberculina* y le ofreció un pequeño laboratorio a Ehrlich en el Hospital Municipal Moabit de Berlín. Allí, trabajando con Paul Guttman, halló que, aparentemente, la administración de *tuberculina* podía mejorar las tuberculosis pulmonares y laríngeas, lo que dio a conocer en el Séptimo Congreso Internacional de Higiene y Demografía que se llevó a cabo en Londres en 1891. Ehrlich y Guttman también administraron el azul de metileno a dos pacientes con malaria debido a la avidez del plasmodio por el colorante, sin éxito alguno, en 1891. Posteriormente lo intentaría con el rojo tripán.

Poco después, Koch, entonces director del Instituto de Enfermedades Infecciosas de Berlín, hoy Instituto Robert Koch, llevó a Ehrlich como uno de sus asistentes. Al instituto llegó Emil Adolf von Behring⁸ quien, junto con el investigador japonés Shibasaburo Kitasato⁹, había desarrollado la terapia de los sueros, primero contra el tétanos y después la difteria, habiendo establecido el concepto de *antitoxina*, lo que habían publicado hacia fines de 1890. Mientras que Pasteur¹⁰ utilizaba cepas atenuadas para preparar sus vacunas, y Koch también lo hacía para preparar su *tuberculina*, Behring obtenía la propiedad de antitoxina en los sueros a partir de la sangre de animales inmunizados de manera natural o artificial.

En 1892 comenzó la producción comercial de suero antidiftérico en Alemania, y al año siguiente le seguiría Francia. En el instituto de Koch, la labor de Ehrlich consistió en ayudar a preparar los sueros antidiftéricos en cantidades comerciales y revisar la calidad del producto elaborado por la compañía farmacéutica Hoechst. En esta tarea de

cooperación con Behring, entre 1890 y 1895, Ehrlich halló la forma de estimular la respuesta inmune sistemáticamente y así obtener sueros con títulos altos de antitoxina y con ello lograr protocolos de inmunización efectiva. Descubrió, analizó y definió las diferentes calidades de los anticuerpos experimentalmente y los tipos de inmunoglobulinas (entonces denominadas antitoxinas, precipitinas, aglutininas, opsoninas y lisinas). Desarrolló los métodos para estandarizar cuantitativamente los sueros. Y, trabajando con la antitoxina diftérica, descubrió que en el organismo el efecto de la toxina no correlacionaba con la capacidad ligadora o fijadora de la antitoxina. Esto lo llevaría a postular poco después su *teoría de las cadenas laterales*.

A principios de 1895, por iniciativa del ministro de Asuntos Educativos y Médicos, Friedrich Althoss, se estableció un servicio de control de antitoxinas en el instituto de Koch bajo la dirección de Ehrlich y teniendo como asistentes a Hermann Kossel y August Paul von Wassermann. Este servicio se convirtió, en 1896, en el Instituto para Investigación y Prueba del Suero (Institut für Serumforschung und Serumprüfung en Steglitz, un suburbio de Berlín. En 1899, este instituto fue trasladado a un local mucho más amplio y cómodo en Frankfurt que pasó a llamarse el Real Instituto Prusiano para Terapia Experimental. Este instituto sería dirigido por Ehrlich hasta su muerte dieciséis años más tarde.

La relación de Ehrlich con Behring se resquebrajó cuando este último no lo incluyó en un contrato con la industria farmacéutica para producir comercialmente el suero antidiftérico. También contribuyó las desavenencias entre Behring y Hans Aronson, pupilo de Ehrlich. Por último, no le agradó a Behring que la dirección del Real Instituto Prusiano de Frankfurt le fuera entregada a Ehrlich.

La labor del Real Instituto Prusiano no sólo era el rutinario examen de calidad de los productos inmunoterapéuticos producidos en el país, como las vacunas, la *tuberculina* y los sueros con antitoxinas, sino también la de realizar investigaciones terapéuticas. De Steglitz, Ehrlich conservó a sus discípulos Dönitz, Neisser y Morgenroth. Posteriormente, llegaron Hans Sachs, Emil von Dungern, E. Marx, Hugo Apolant y Alfred Bertheim.

Asimismo, el Instituto de Ehrlich recibió la visita de investigadores extranjeros, atraídos por su fama, quienes tuvieron una estada variable. Entre ellos citaremos a los norteamericanos Reid Hunt, Christian Archibald Herter y Preston Keyes; los británicos Carl Hamilton Browning y Henry Hallet Dale; y, los japoneses Kiyoshi Shiga y Sahachiro Hata.

⁸ Emil von Behring (1854-1917). Trabajando junto con Kitasato lograron obtener un suero antidiftérico que curó a un niño, en Berlín, en 1891. Con su descubrimiento se inició la seroterapia y la inmunología humoral. Por su trabajo sobre las antitoxinas recibió el Premio Nobel en 1901, la primera vez que se entregó este premio.

⁹ Shibasaburo Kitasato (1852-1931). Médico japonés. Trabajo primero con Koch y después con Behring. En 1889, preparó el suero antitetánico en el laboratorio de Koch. Con Behring descubrieron el suero antidiftérico. Fundó el Instituto Japonés de Enfermedades Infecciosas. Descubrió el agente causante la peste bubónica, *Pasteurella pestis*, en 1894, independientemente del hallazgo de Alexandre Yersin.

¹⁰ Louis Pasteur (1822-1895). Químico francés. Derrubó la teoría de la generación espontánea, explicó las formas racémicas de ciertas sustancias cristalizadas, postuló la teoría bacteriana de las infecciones, describió el método de la pasteurización, preparó vacunas contra el carbunco y contra la rabia (1885).

En setiembre de 1906 fue fundado el Instituto de Investigación de Quimioterapia también conocido como la Georg Speyer Haus für Chemotherapie que fue construido adyacente al Instituto de Ehrlich, y subvencionado por Franziska Speyer en memoria de su esposo, el banquero Speyer. Este instituto tenía su propio grupo de investigadores pero también bajo la dirección de Ehrlich.

LA TEORÍA DE LAS CADENAS LATERALES (5)

En 1884, Ilya Mechnikov¹¹ había hallado que la *fagocitosis* realizada por los neutrófilos sobre las bacterias era una excelente manera de defenderse del organismo, es decir de tornarse inmune. La inmunidad humoral nació cuando Behring y Kitasato tornaron inmunes a animales ante las toxinas tetánicas y diftéricas con la inyección de suero inmune. Cómo eran los mecanismos íntimos de estas inmunidades era algo que se desconocía en ese entonces. El mismo Pasteur prefería lo práctico, preparar sus vacunas, sin aventurarse a postular teorías que expliquen sus hallazgos. De esta manera, por un lado se encontraba la escuela franco rusa apoyando la teoría celular o fagocítica de la inmunidad y opuesta a ella se hallaba la escuela germana con su teoría humoral o de las antitoxinas. Una tercera forma de inmunidad fue expuesta por Koch con su *tuberculina*, donde el rol principal estaría a cargo de los linfocitos. Es aquí donde Ehrlich entró a tallar tratando de explicar la inmunidad humoral con su teoría de las *cadena laterales*.

La primera vez que Ehrlich presentó esta teoría fue en 1897 con la publicación de su *Ensayo sobre la determinación de la valencia del suero antidiftérico (Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen)*.

Esta teoría se fue elaborando desde que Ehrlich inició sus investigaciones con los colorantes. Conocía que las sustancias químicas se fijaban a los tejidos. Conocía que las sustancias colorantes cambiaban sus propiedades al

modificarse las cadenas laterales de su estructura molecular básica. Asumía que las células estaban compuestas de una sustancia proteica que en su superficie expresaban moléculas complejas más o menos estables y de las cuales emergían unas *cadena laterales*, que después llamaría *receptores*, por las cuales podría fijar nutrientes como también sustancias extrañas. Y, que estas *cadena laterales* podrían fijar las toxinas de una manera parecida a lo que Emil Fischer¹² había descrito para las enzimas y sus sustratos, «*como una llave con su cerradura*». Que las toxinas (venenos) actuarían sobre las células cada vez que los grupos haptóforos de su estructura molecular se ligaran con los correspondientes de las *cadena laterales*. Que, ante un cuerpo extraño la célula produciría *cadena laterales* en una proporción mayor que la que requería para fijar a dicho cuerpo extraño. Este excedente de *cadena laterales* se desprendía de la célula y pasaría al torrente sanguíneo actuando como antitoxinas (anticuerpos) circulantes. De esta manera, el organismo quedaría inmunizado contra futuras infecciones. Fueron estos anticuerpos los que Ehrlich denominó «*balas mágicas*» en busca de las toxinas. De aquí que él consideró a la terapia de sueros como una forma eficaz de combatir a las infecciones. En aquellos casos en que no funcionaran los sueros, entonces tendría que buscarse o sintetizarse sustancias químicas que hicieran las veces de las *cadena laterales*. Estos agentes *quimioterápicos* serían las nuevas *balas mágicas*.

La visión que Ehrlich tenía sobre la respuesta inmune era de tipo molecular o estereoquímico. Los cuerpos extraños o las toxinas tenían grupos químicos que tenían afinidad específica por otros grupos químicos de la célula, tal que les permitían fijarse a la célula con un grupo químico determinado y podían ejercer su acción deletérea con otro. Pero, como suele suceder en las ciencias, no todos estuvieron de acuerdo con las proposiciones de Ehrlich. En 1901, Max von Gruber desató una polémica que duró dos años y que, inexcusablemente, se tornó insultante para la teoría de Ehrlich. Los científicos Svante August Arrhenius, Thorvald Madsen y Jules Jean Baptiste Vincent Bordet atacaron la *teoría de las cadena laterales* de una manera constructiva cuestionando la naturaleza química de la unión entre la toxina diftérica y la antitoxina. En 1909, J. Bang y John Forssmann criticaron nuevamente la teoría por lo que Ehrlich y Sachs respondieron en sendas publicaciones. Cuando criticaron a la teoría de no tener ningún valor práctico y a su autor de ser muy teórico, Wassermann salió en defensa de Ehrlich manifestando que la reacción de fijación del complemento para el

¹¹ Ilya Mechnikov (1845-1916). Embriólogo y pionero de la inmunología ruso. En 1887 fue subdirector del Instituto Pasteur de París. Descubrió el fenómeno de la fagocitosis. Logró transmitir la sífilis del humano a animales superiores para fines de experimentación. Le fue conferido el Premio Nobel de Fisiología y Medicina en 1908, compartiéndolo con Ehrlich.

¹² Emil Hermann Fischer (1852-1919). Descubrió los hidroxanos (compuestos de hidrógeno y nitrógeno) en 1875, descompuso la albúmina en sus aminoácidos (1889), logró sintetizar un polipéptido de 18 aminoácidos (1902) y junto con Josef von Mering sintetizaron el Veronal, el primer barbitúrico (1902).

diagnóstico de la sífilis no hubiera sido posible sin el aporte de su teoría.

Ehrlich fue nominado varias veces por esos años para el Premio Nobel y es muy probable que estos cuestionamientos retardaron la entrega de la magna distinción. Pero, el gobierno prusiano no escatimó reconocimientos y le otorgó la Gran Medalla Dorada de Prusia por la Ciencia en 1903, que previamente había sido entregada sólo a Rudolf Virchow¹³

A Ehrlich le fue otorgado el Premio Nobel de Fisiología y Medicina recién en 1908, «por su contribución imperecedera a la investigación biológica y médica, particularmente por la determinación de las valencias de los sueros». El premio lo compartió con Ilya Mechnikov quien se hizo merecedor de la distinción por su contribución a los estudios de la inmunidad mediada por los fagocitos.

Ahora sabemos que la *teoría de las cadenas laterales* no es válida pero fue un intento racional del investigador para explicar los resultados de sus experimentos. Es esa, precisamente, la característica del conocimiento científico. Ni Jenner ni Pasteur se aventuraron a postular teorías sobre la acción de sus vacunas. La inmunología nació con Behring, Ehrlich y Mechnikov. En los siguientes veinte años, fueron descritos los procesos alérgicos, autoinmunes y los fenómenos relacionados con los trasplantes, y la inmunohistoquímica se hizo cuantitativa. La naturaleza y propiedades de las inmunoglobulinas serían descubiertas. Y, recién a fines de 1950's, el estudio se desplazaría de la serología a las células linfocitos y aparecería la teoría de la selección clonal. De allí en adelante se desarrollaría el estudio de las células inmunitarias y la biología molecular.

Algunos autores han tratado de dividir la producción intelectual de Ehrlich en períodos pero ello es arbitrario sobre todo la Ehrlich trabajó en equipo y siguiendo estudios paralelos, con cierta predominancia de algunos a veces.

Los estudios experimentales sobre el cáncer representan un paréntesis en la línea principal de investigación de Ehrlich y su equipo. Factor importante para esto fue el apoyo económico de la Fundación Theodor Stern que

financió la creación de un departamento de investigación en cáncer en el Instituto de Terapia Experimental que dirigía Ehrlich en 1901. Luego de dos años de trabajo improductivo, la experiencia de Jensen¹⁴ guió a Ehrlich y Apolant para que realizaran miles de experimentos de trasplantes de tumores, consiguiendo incrementar la virulencia de algunas cepas y de lograr cierto grado de inmunidad inyectando inicialmente cepas poco agresivas ante subsecuentes administraciones de cepas más agresivas.

El desarrollo de la bacteriología con los sucesivos y grandes descubrimientos de los diferentes agentes etiológicos de las enfermedades infecciosas probablemente indujo a Ehrlich a redireccionar su trabajo y volver a sus colorantes y a la búsqueda de sus *balas mágicas*.

EL SALVARSAN Y LA CURA DE LA SÍFILIS (6-8)

En los albores del siglo XX eran muy pocos los compuestos químicos utilizados como medicamentos. Muchos compuestos se hallaban en fase de experimentación y, por lo general, eran sintomáticos antes que curativos. Entre los más prescritos se encontraban el sulfato de quinina, el sulfato de morfina, el yoduro de potasio, el fenol, el yoduro mercurioso y el bromuro de potasio. Los anestésicos generales eran otro quehacer de la incipiente industria farmacéutica. En dermatología se aplicaba el ictiol, la resorcina y se añadió el rojo escarlata. El acelerado desarrollo de la química orgánica, muy bien explotada por los alemanes, llevó al crecimiento de la industria farmacéutica. En los Estados Unidos de Norteamérica también se desarrolló esta industria. Así tenemos a E.R. Squibb que abrió en 1858, Eli Lilly Co. en 1876, la filial de Merck & Co. en 1881, Parke-Davis & Co. en 1867, etc. Dos hitos fueron la introducción del ácido acetilsalicílico (*aspirina*) en la clínica en 1899 y la síntesis de la epinefrina en 1903.

Para los ensayos se empezó a reproducir las enfermedades en los animales de experimentación antes que tratar con los enfermos. En Alemania, existía una simbiosis entre el Instituto de Ehrlich y los laboratorios farmacéuticos Hoechst y Farbwerke Casella, los que proveían de materiales al primero y esperaban recibir la buena pro para la producción industrial de los descubrimientos.

Para ese entonces, con excepción de las vacunas antivariólica y antirrábica, las vacunas eran una promesa antes que una realidad. Se desarrolló la terapia con sueros para la neumonía neumocócica y la meningitis meningocócica pero la única que demostró ser efectiva fue el suero antidiftérico.

¹³ Rudolph Ludwig Karl Virchow (1821-1902). Notable patólogo que sentó las bases de la patología celular con su obra *Die Cellularpathologie* en 1856. Introdujo los conceptos de leucemia (1845), trombosis (1848), neuroglia (1854), amiloidosis (1854) y leucocitosis (1855).

¹⁴ Carl Oluf Jensen (1864-1934). Patólogo veterinario danés que, en Copenhague, en 1903, demostró el trasplante del sarcoma a través de 40 generaciones de ratas.

Lister venía usando el ácido fénico desde 1865 como antiséptico. El desarrollo de la teoría bacteriana por Pasteur, que primero explicó la fermentación y después la putrefacción y la supuración, le dio el sustento racional a la antisepsia. Se intentó administrar el ácido fénico pero su problema era la toxicidad además que su efecto antibacteriano era relativo. Koch realizó experimentos con el bicloruro de mercurio, el yodo y el cloruro de zinc hallando que el efecto antibacteriano era variable con las concentraciones y con el tipo de bacteria. Cuando quiso intentar la «desinfección interna» con el bicloruro de mercurio en los animales de experimentación halló que era muy tóxico. Oscar Boer, ayudante de Behring, encontró que el violeta de metilo era más activo contra la bacteria del carbunco que con la de la difteria y con este más que con el bacilo tífico. En 1883, en el Congreso de Medicina Interna de Wiesbaden, se llegó a la conclusión que «la desinfección interna era un imposible».

Este era el panorama de la terapéutica cuando Ehrlich decidió incursionar con los compuestos químicos que ejerzan una actividad contra los microorganismos patógenos.

Ehrlich había acuñado el término *quimioterapia* para referirse al uso de compuestos químicos que una vez administrados tenían una acción deletérea contra los organismos invasores sin causar daño a los tejidos del infectado. Hasta 1898, solo los mercuriales eran empleados como tratamiento para la sífilis. Ehrlich había tratado anteriormente a pacientes con malaria con el azul de metileno pero se dio cuenta que por allí no era el camino.

En 1904, Ehrlich inició los estudios de quimioterapia experimental de las infecciones por tripanosomas, causantes de la enfermedad del sueño, y con Kiyoshi Higa sintetizaron el primer *agente quimioterápico*, el rojo tripán que demostró ser muy efectivo contra dichos parásitos.

Poco después, se interesó por las propiedades deletéreas del *atoxyl*¹⁵ sobre los tripanosomas. El *atoxyl* era efectivo,

aunque aparecían cepas resistentes, pero producía severos efectos colaterales como toxicidad en el sistema nervioso, especialmente en el nervio óptico.

En 1905, Schaudinn¹⁶ y Hoffmann¹⁷ habían encontrado al *Treponema pallidum* como agente etiológico de la sífilis. En 1906, Wassermann había desarrollado la reacción de fijación del complemento para diagnosticarla. Por otro lado, Roux y Mechnikov habían logrado transmitir la sífilis al mono lo cual facilitaba los experimentos. Así que, Ehrlich dirigió su atención a la estigmatizada enfermedad contraída por contacto sexual, que aquejaba a millones de individuos en el mundo y que no tenía una cura definitiva¹⁸.

En primer lugar, Ehrlich y colaboradores, el químico orgánico Alfred Bertheim especialmente, determinaron la estructura química del *atoxyl*: un aminoderivado del ácido fenilarsénico. Acetiló el arsánil obteniendo la arsacetina que era un potente espiroquetida pero también producía lesiones en el nervio óptico. Observó que el arsánil y la arsacetina no eran efectivas *in vitro* por lo que supuso que estas sustancias eran reducidas en el organismo convirtiéndose en formas activas. Demostró que los tripanosomas y las espiroquetas tenían receptores para los compuestos químicos.

Ehrlich recibía la ayuda de Arthur Weinberg y Ludwig Benda, director y químico respectivamente, de la Farbwerke Cassella & Co. que preparaba las sustancias químicas con las especificaciones que les diera Ehrlich, desde antes que se estableciera la Georg Speyer Haus.

Hacia fines de 1908, en una conferencia ante la Sociedad Alemana de Química, Ehrlich

describió un compuesto de arsenobenceno trivalente, derivado de la doble reducción del *atoxyl*, conocido como arsenofenilglicina o número 418 en la serie de pruebas, que tenía propiedades tripanosomacidas y que era de baja toxicidad para los ratones.

En la parte final de su discurso al recibir el Premio Nobel, en 1908, dijo: «*El objeto de presentarles mis experiencias ha sido mostrarles que gradualmente nos estamos aproximando al problema de asegurar una mirada al interior de la naturaleza de la acción de los fármacos. Espero, también, que una visión sistemática de mis puntos de vista aquí presentados facilitará un desarrollo racional de la ciencia de la síntesis de los fármacos. En este sentido puedo decir entonces que la arsenofenilglicina ha demostrado en los animales de experimentación ser verdaderamente un agente terapéutico ideal. Con la ayuda de esta sustancia es posible curar completamente*

¹⁵ Atoxyl. Arsanilato de sodio. El 23% de su peso corresponde al arsénico. Desarrollado por Harold Wolferston Thomas y Anton Breinl en la Escuela de Medicina Tropical de Liverpool en 1905.

¹⁶ Fritz Richard Schaudinn (1871-1906). Protozoólogo del Instituto de Enfermedades Tropicales de Hamburgo.

¹⁷ Erich Hoffmann (1868-1959). dermatólogo y sifilólogo que trabajó con Schaudinn.

¹⁸ La sífilis se trataba con mercurio, propugnado por Giorgio Sanmariva, de Verona, desde 1496. El yoduro de potasio fue empleado para el tratamiento de la sífilis secundaria por Robert Williams en 1831 y para la sífilis terciaria por William Wallace en 1835.

cualquier infección de tripanosomas en cualquier animal y tan sólo con una inyección. Verdaderamente, tal resultado puede ser llamado terapia sterilisans magna.» (5)

En el invierno de 1909 llegó Sahachiro Hata¹⁹ procedente del Japón, con la experiencia de haber logrado infectar con sífilis a los conejos, y Ehrlich le encargó probar con el compuesto número 606. Hata halló que el 606 o dihidroxi-diamino-arsenobenzen-dihidrocloreto, tenía muy buena acción contra los espirilos de las aves y obtuvo una buena respuesta cuando, el 9 de junio de 1909, lo administró a un conejo que tenía la córnea infectada con sífilis. Además, este compuesto tenía una razón terapéutica/tóxica muy buena²⁰. Varios ensayos demostraron que este compuesto era espiroquetocida en la infección de los conejos.

En setiembre de 1909, Ehrlich le comunicó a Konrad Alt, director del hospital de Uchtspringe que: «*El doctor Hata que trabaja conmigo, ha ensayado recientemente un preparado que actúa sobre los espirilos de la fiebre recurrente de manera mucho más eficaz que la arsenoglicina. Con ello se ha podido curar a ratas y ratones a los que se había infectado la enfermedad, con ayuda de una única inyección, algo que no es posible con ninguno de nuestros otros preparados.*» (9)

Ehrlich decidió ensayar la sustancia química en los humanos. De manera selectiva, el compuesto fue entregado a especialistas seleccionados para los ensayos clínicos. Entre los primeros en inyectarse estuvieron dos médicos de Alt. Este último administró la dosis endovenosa de 0.3 g de 606 a 23 pacientes con un cuadro paralítico en su mayoría. Como resultado se obtuvo que fue muy eficaz para los casos de fiebre recurrente y de sífilis temprana, y los casos de parálisis general progresiva mostraron una mejoría muy discreta.

Los ensayos clínicos culminaron en abril de 1910 cuando Ehrlich, Hata y los investigadores que participaron en los

ensayos decidieron dar a conocer que un compuesto arsenical sintético tenía propiedades curativas sobre las espiroquetosis de los conejos, de las aves y de algunos pacientes con sífilis. La Farbwerk-Hoechst no podía esperar nuevos ensayos así que decidió donar miles de dosis a los médicos en diversas partes del mundo. En aquel año, Ehrlich resumió sus experiencias de lo experimental a lo terapéutico en humanos y publicó tres trabajos conjuntos con sus colaboradores²¹.

Se desató una avalancha de pedidos y hacia fines de 1910 la Georg Speyer Haus había repartido unas 65 000 dosis gratuitamente y el producto fue patentado por la Hoechst Chemical Works con el nombre de *Salvarsan*, que más tarde se vendería en los Estados Unidos de Norteamérica con el nombre de *arsfenamina*.

No todo fue fácil para Ehrlich. Como era de esperarse, no tardaron en reportarse los efectos indeseables del fármaco por lo que sus detractores no desperdiciaron la oportunidad de atacarlo nuevamente. Además, tuvo que lidiar con la policía alemana que se oponía al *Salvarsan* porque las prostitutas, al curarse e infectarse repetidamente, seguirían siendo un peligro para la salud pública. Por otro lado, la Iglesia Ortodoxa Rusa se manifestó en contra porque consideraba a la sífilis como un castigo divino contra los pecadores y el *Salvarsan* los eximiría de dicho castigo. Este reclamo también lo sería de muchas personas e instituciones en diversas partes del mundo.

En los siguientes cuatro años, Ehrlich tuvo que batallar contra las imperfecciones del fármaco, de su manufactura, el curso natural de la sífilis y la moral de las personas. Por lo menos trató de ser exigente con lo que a él le atañía. La técnica misma de aplicación endovenosa ya era un problema para los médicos que no tenían experiencia. En 1914, la literatura médica registró 109 muertes atribuidas a la administración de *Salvarsan*.

Ehrlich desarrolló un nuevo compuesto arsenical, el número 914, en una solución neutra sin perder sus propiedades espiroquetocidas. A partir de 1912 este compuesto fue comercializado como *Neosalvarsan*. En sus últimos años, Ehrlich trabajó con su último colaborador, Paul Karrer, tratando de mejorar el *Salvarsan* combinándolo con metales pesados.

La cura de la sífilis estaba lejos de ser definitiva. El tratamiento con *Salvarsan* suponía dosis endovenosas semanales por largos periodos; y, cuando ya se le creía curada, la enfermedad hacía una recidiva. Para asegurar el tratamiento, a las formas primarias los médicos agregaban mercurio o yoduro de potasio. Más tarde, en

¹⁹ Sahachiro Hata (1873-1938). Bacteriólogo japonés, discípulo de Kitasato.

²⁰ Ehrlich también introdujo el concepto de Índice Quimioterapéutico, que era la proporción de la dosis mínima efectiva entre la dosis máxima tolerada.

²¹ Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen (Syphilis, Rückfallfieber, Hühnerspirillose, Frambösie), escrito con Hata y con contribuciones de Henry James Nichols y colaboradores, Berlin, Springer, 1910; Die Behandlung der Syphilis mit dem Ehrlichschen Präparat 606. Deutsche medizinische Wochenschrift, Berlin, 1910, 36: 1893-1896; y, Die Behandlung der Syphilis mit dem Ehrlich'sen Präparat 606. Leipzig, 1910. Verhandlungen auf der 82. Versammlung Deutscher Naturforscher und Aerzte in Königsberg am 20. September 1910; 871-992, contribuciones de famosos científicos como Schreiber, Iversen, Salmon, Siebert, Nagelschmidt Dohi (Tokyo) y de Ehrlich.

1928, Fleming²² encontraría que la penicilina, sustancia producida por el moho *Penicillium notatum*, era bactericida y que recién a partir de 1943 se le emplearía como tratamiento definitivo de la sífilis y de otras infecciones. Pero esto ya es otra historia, la de los *antibióticos*.

Indudablemente que Ehrlich había iniciado y desarrollado el camino de los *agentes quimioterápicos*. En esa misma línea, entre 1932 y 1935, Domagk²³ trabajó con colorantes y halló que el *Prontosil* tenía efectos bacteriostáticos sobre los estreptococos. Luego se demostró que era la fracción sulfamidada del *Prontosil*, la sulfanilamida, que tenía la acción antibacteriana. De allí en adelante se desarrollarían numerosos *agentes quimioterápicos* como antimicrobianos sintéticos en una línea paralela al descubrimiento y producción de los *antibióticos*.

Los últimos años de Ehrlich no fueron buenos. Continuamente fue atacado por sus detractores e incluso tuvo que salir en defensa del Hospital de Frankfurt cuando fue acusado por un diario local de haber administrado *Salvarsan* a prostitutas sin el debido consentimiento de ellas. La Primera Guerra Mundial, en 1914, distrajo transitoriamente la atención de las querellas en su contra.

Su salud se deterioró rápidamente a partir de diciembre de 1914 cuando tuvo un leve accidente cerebrovascular. Además, se le había reconocido una diabetes. En agosto de 1915 ingresó a un sanatorio para tratamiento y descanso pero poco después sufrió otro accidente cerebrovascular que lo llevó a la muerte.

Ehrlich falleció el 20 de agosto de 1915 en Bad Homburg vor der Höhe y fue enterrado en el cementerio judío de Frankfurt.

Años más tarde, con la asunción del Partido Nazi al poder, su viuda tuvo que soportar la persecución y la confiscación de sus bienes. El profesor sir Almoth Wright, discípulo de Ehrlich, consiguió que Burroughs Wellcome proveyera de una pensión vitalicia a la viuda.

Ehrlich fue una persona honesta, trabajadora, metódica y autodidacta. Muy minucioso y amigo de dejar la tarea cotidiana a sus colaboradores por escrito, sus famosos «bloques», guardando él una copia. Solía decir que un buen

investigador requería de las cuatro G's: *Geduld, Geschick, Glück und Geld* (paciencia, talento, suerte y dinero). Daba sus conferencias en alemán pero leía literatura científica en inglés y francés con fluidez. En general, practicaba la lectura veloz. Fumador empedernido, entusiasta, de buen humor y llano a establecer buenas amistades. Se declaraba como monómano de la ciencia y su mayor distracción eran las novelas policíacas, las de Conan Doyle eran sus preferidas, y, aunque no era muy ducho en las artes, solía disfrutar de la música ligera.

Recibió muchos honores y distinciones en vida, por gobiernos y sociedades científicas, especialmente cuando, en 1911, fue nombrado Consejero Real Privado en el Grado de Excelencia, la más alta distinción que un civil podía recibir de la Corte de Prusia.

La vasta obra de Ehrlich fue compilada y editada por F. Himmeweitm, y comprendió 158 publicaciones en idioma Alemán, excepto 11 trabajos que fueron publicados inicialmente en Inglés o Francés.

La huella de Ehrlich en la ciencia médica es imperecedera. Hoy, el concepto de *quimioterapia* se aplica también, por extensión, a los compuestos químicos que tienen acción antineoplásica. Su instituto es ahora el Instituto Paul Ehrlich que es un organismo oficial encargado de supervisar la producción de todos los productos inmunobiológicos, como vacunas y sangre y derivados. Tiene secciones de Alergia, Transfusiones, Inmunología, Biotecnología y Farmacovigilancia. Sus líneas de investigación son las infecciones y vacunas, los métodos de reemplazo de los animales en experimentación, derivados de la sangre, inmunología molecular, alergología molecular y fármacos de biotecnología. (10)

Terminaremos con las palabras que dijera Behring ante su tumba: «*Contigo, Paul Ehrlich, ha desaparecido uno de los representantes de la época heroica de la investigación terapéutica experimental, y, además, un rey dentro de la ciencia creada por ti mismo, el maestro de innumerables investigadores del mundo entero*». (11)

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ilya Mechnikov. Paul Ehrlich. Biography (Presentation Speech for the Nobel Prize in Physiology or Medicine). The Nobel Foundation, 1908. En: www.nobel.se/medicine/laureates/1908/ehrich-bio.html
2. Baumler, Ernest. Paul Ehrlich, Scientist for Life: A Biography. Holmes & Meier Publishers Inc., New York, 1984.

²² Alexander Fleming (1881-1945). Bacteriólogo británico que descubrió la penicilina en 1928. En 1945 recibió el Premio Nobel junto con Howard Walter Florey y Ernst Boris Chain, quienes aislaron la penicilina, dirigieron los primeros ensayos clínicos y lograron su producción industrial.

²³ Gerhard Domagk (1895-1964). Bioquímico, desarrolló las sulfonamidas. Fue obligado por el Gobierno Nazi a rechazar el Premio Nobel en 1939. Introdujo la tiosemicarbasona en el tratamiento de la tuberculosis en 1946.

3. Enersen, Ole Daniel. Paul Ehrlich. En: www.whonamedit.com/doctor.cfm/83.html 1880. Pages 40-44. Oxford University Press Inc., New York, 1987.
4. Schwartz, Robert S. Paul Ehrlich's Magic Bullets. *NEJM* 2004; 350 (11): 1079-1080.
5. Ehrlich, Paul. On Immunity with Special Reference to Cell Life. Nobel Lecture, Stockholm, 1908. En: *German Essays on Science in the 19th Century*. The German Library, v.36. Ed. Wolfgang Schirmacher. The Continuum Publishing Company, New York, 1996.
6. Galdston, Iago. Hasta llegar a las sulfamidas. Editorial Losada S.A., Buenos Aires, 1943.
7. Brandt, Allan M. No Magic Bullet. A Social History of Venereal Disease in the United States Since 1880. Pages 40-44. Oxford University Press Inc., New York, 1987.
8. Hayden, Deborah. Pox. Genius, Madness and the Mysteries of Syphilis. Page 44. Basic Books, New York, 2004.
9. Salvarsan contra la Sífilis. *Crónica de la Medicina*. Pág. 374. Plaza & Janés Editores, Barcelona, 1983.
10. Paul Ehrlich Institute. En: www.innovations-report.com
11. Hermann, Armin; Kolbe, Jurgen; Ronge, Grete, Weber, Ernst; y, Winau, Rolf. Premios Nobel Alemanes. Pág. 47-48. Sociedad Editora Heinz Moos, Munich, 1968.