

INSTITUTO DE ESPAÑA
REAL ACADEMIA DE FARMACIA

MEDICAMENTOS ANTITUBERCULOSOS

DISCURSO

LEIDO POR EL

EXCMO. SR. DR. D. MANUEL GONZALEZ JAUREGUI
ACADEMICO DE NUMERO

EN LA SOLEMNE SESION INAUGURAL DEL CURSO 1948-49
CELEBRADA EL DIA 11 DE ENERO DE 1949



M A D R I D
M C M X L I X

MEDICAMENTOS ANTITUBERCULOSOS

EXCELENTISIMO SEÑOR:

SEÑORES ACADÉMICOS:

SEÑORAS, SEÑORES:

Cuando, hace años, formaba yo parte de la Junta de Gobierno de esta Corporación, al finalizar cada curso, nuestro celoso secretario perpetuo preguntaba qué académico se encargaría de hacer el discurso inaugural del curso siguiente. Nunca me ofrecí para tal misión, por considerar que cualquier otro colega la llevaría a cabo con más acierto y brillantez que el que yo pudiera lograr. En estos últimos años Se ha establecido un nuevo sistema para designar al académico que se encargue de este trabajo, y en el orden rotatorio corresponde a la sección de Ciencias Biológicas el redactar el discurso que dé comienzo al año académico 1948-1949, y dentro de esta sección, he sido el designado para tal cometido. El negarme a hacerlo representaría una deserción, y, por tanto, hube de aceptar tan inmerecido honor, aun a trueque, repito, de privaros de oír otras voces más autorizadas y competentes que la mía.

Elección del tema.- Mi primera responsabilidad fué la de elegir un tema que tuviera suficiente interés para merecer vuestra atención, Pensé que dar cuenta de los más recientes progresos en el campo de los antibióticos hubiera sido interesante, y yo, que desde este mismo lugar fui el primero en España que hablé en público de la penicilina, hubiera podido ocuparme hoy de los más recientes hallazgos sobre este maravilloso fármaco y sobre los nuevos antibióticos que se descubren de continuo en tan fértil campo de la ciencia. Los nuevos antitiroideos, los modernos antipalúdicos y los recientes antihistamínicos son temas que el Laboratorio Lefa ha sometido ya al concurso de premios de esta Real Academia. Las últimas adquisiciones de medicamentos analgésicos, antihelmínticos, anticancerosos y los ensayos de aplicación biológica y terapéutica resultantes de la disgregación atómica, entre otros, fueron temas que juzgué que pudieran merecer una exposición por parte del que, por estar encargado de la dirección de un laboratorio farmacéutico, tiene la obligación de seguir atentamente la evolución del progreso farmacoterapéutico. Sin embargo, el hecho de estar particularmente preocupado en la actualidad en la obtención de medicamentos contra la tuberculosis y la lepra me hicieron tomar la decisión de tratar de los medicamentos antituberculosos, cuyo estudio se encuentra hoy en un momento verdaderamente interesante, mereciendo la atención de los hombres de ciencia de todos los países.

Importancia de la tuberculosis.- La tuberculosis constituye sin duda uno de los más graves problemas can que tiene que enfrentarse la Humanidad. "No nos equivocáramos mucho afirmando que todo ser humano adulto es tuberculoso", dicen DOPTER y SACQUEPEE (1), En todos los países es la enfermedad que ocupa el primer lugar en las estadísticas de morbilidad y mortalidad. Aproximadamente, un hombre de cada siete que mueren, es tuberculoso, y dentro de las tuberculosis, la pulmonar representa el 75 por 100 de los casos letales, En España (2), en 1945, murieron 30.166 tuberculosos, lo que representa nueve por diez mil habitantes, y en países como la India mueren 500.000 personas tuberculosas todos los años. Las pérdidas económicas que produce esta enfermedad son considerables. Según BENÍTEZ FRANCO (3), 111.610 personas no pueden trabajar en España a causa de la tuberculosis, valorándose en 335.000.000 de pesetas el rendimiento económico que su trabajo hubiera proporcionado. VACCAREZZA (4) calcula que en 1936 las pérdidas por este concepto en la Argentina representaron 280 millones de pesos.*

Es lógico que esta situación sea motivo de honda preocupación en

* Respecto a las cifras consignadas en las estadísticas, hay que advertir que en buen número de enfermos que mueren tuberculosos no figura esta dolencia como causante final de la muerte. Así, por ejemplo, se ha publicado (5) que en el estado de Nueva York, de 1940 a 1942, no se dió cuenta a las autoridades del 21 por 100 de las muertes producidas por tuberculosis.

todos los países civilizados. En España, el presupuesto del Patronato Nacional Antituberculoso ascendía en 1945 a III millones de pesetas, y según el proyecto de ley de 18 de octubre de 1947, el plan de obras de construcción, ampliación y adaptación de sanatorios, preventorios y dispensarios se ha aumentado a 680 millones de pesetas, lo que permitirá un emplazamiento de 25.000 camas para asistencia de enfermos tuberculosos.

Historia.- La historia del tratamiento medicamentoso de la tuberculosis sólo comienza a hacerse de un modo científico en el último cuarto del siglo XIX. En las civilizaciones más antiguas la enfermedad era un castigo divino, y como dice LAIN ENTRALGO (6), el enfermo fué considerado como un pecador hasta GALENO, que empezó a considerar al pecador como a un enfermo. En realidad, para hacer historia de los medicamentos antituberculosos, tenemos que hacerla de la enfermedad misma.¹

Entre los asirios, caldeas, babilonios y egipcios era conveniente el empleo de amuletos para ahuyentar los malos espíritus causantes de la enfermedad, y la práctica de plegarias y encantamientos era corriente con análoga finalidad. Los medicamentos servirían tan sólo para reparar los estragos producidos por la enfermedad, y estos medicamentos eran caparazones de cangrejo, leche de burra y excrementos de animales. La extraordinaria civilización griega produjo grandes observadores que, como HIPÓCRATES, fueron capaces de describir con gran detalle la tisis. ARETEO DE CAPADOCIA y el propio GALENO estudiaron y describieron muy bien la enfermedad, pero no añadieron nada sustancialmente nuevo. si bien en mérito de GALENO debemos decir que incluía la tisis entre las enfermedades que pueden transmitirse de un sujeto a otro. HIPÓCRATES consideraba la enfermedad como un desequilibrio entre los cuatro humores; es decir, como una discrasia, y entonces el paso a la salud se produciría por cocción y consiguiente transformación de esos humores hasta la eliminación del morbo patológico.

Durante la Edad Media nada progresivo se hizo en tuberculosis, ni aun siquiera por los árabes, y durante el Renacimiento, aquel revolucionario que fué PARACELSO no se ocupó de la tuberculosis por considerarla, al igual que la gota y la epilepsia, como enfermedades incurables.

El tubérculo del pulmón del tísico, que ya había sido notado en la antigüedad por CELSIO, fué primeramente descrito por SYLVIO (FRANCISCO DE LA BOE) en el siglo XVII, y por aquel entonces, MORTON emplea por primera vez la denominación tuberculosis pulmonar, si bien en aquel siglo era corriente -y hasta en ello incurrió el propio SVDENHAM- considerar la tuberculosis como una escrófula de localización pulmonar.

Estamos en el siglo XVII y, sin embargo, vemos cuán poco ha avanzado el estudio de la tuberculosis y, por tanto, de su terapéutica racional.

¹ Los hermanos ORIOL ANGUERA (7) han escrito un amenísimo libro sobre la historia de la tuberculosis.

Este atraso se debe a la falta de aplicación del método experimental al estudio de esta enfermedad. En 1701 BOERBAAVE inicia en Leyden la enseñanza de la medicina clínica, y completa sus estudios con exámenes *postmortem*. Pero el autor que más influyó en el avance de la anatomía patológica fué GIOVANNI BATISTA MORGAGNI, del que dice CASTIGLIONI (8) que era "un maestro, en el mejor sentido de la palabra, y un investigador incansable"; fué profesor de Padua durante cincuenta y seis años. Pero este hombre extraordinario rehuía por aprensión diseccionar pulmones tuberculosos. Tal vez por ello consiguió vivir noventa años, pero a juzgar por la opinión de todos los historiadores, esta conducta retrasó en un siglo el avance de estos conocimientos. Posteriormente, los nombres de BICHAT (1771-1802), ROKITANSKY (1804-1878) y VIRCHOW (1821-1902) son dignos de figurar con letras de oro en la historia de este tipo de investigaciones. Por este miedo de MORGAGNI a contagiarse él y sus discípulos, siguieron sin diferenciarse una serie de dolencias incluidas bajo el epígrafe común de tisis o consunción, y que comprendían el enfisema, pleuresía purulenta, dilatación bronquial, sífilis pulmonar, cáncer, actinomicosis y aun ciertas enfermedades cardíacas.

La introducción primero de la percusión, por AUENBRUGGER, y de la auscultación más tarde, por LAENNEC, permitieron un avance decisivo en el conocimiento de esta enfermedad. LAENNEC estableció la diferenciación de enfermedades mal clasificadas, como la pulmonía, la pleuresía serofibrinosa y el catarro bronquial, y descubrió otras nuevas, como la gangrena y el cáncer de pulmón, la dilatación bronquial, el enfisema y el neumotórax. Sus descubrimientos en tuberculosis aún quedan como obras maestras. Afirmó que sólo existe una tuberculosis y que puede revestir dos formas anatomopatológicas. Sus exploraciones clínicas iban seguidas del estudio en los cadáveres. Sin embargo, creía poco en el contagio, y en 1826 moría víctima de la enfermedad que con tanto entusiasmo estudió. La valía de LAENNEC alimenta cuando se considera que vivió en la época en que BROUSSAIS triunfaba en París atribuyendo casi todas las enfermedades a la inflamación y empleando como única terapéutica la sangría y las sanguijuelas.

Lo que no pareció preocupar a LAENNEC fué la causa de la tuberculosis; incluso ya hemos visto que no creía en el contagio, idea muy generalizada en Francia, a pesar de que en otros países mediterráneos se dieron una serie de disposiciones encaminadas a evitarlo, destacando, entre ellas, una pragmática del reino de Valencia de 1737.

El mérito de demostrar de un modo científico la contagiosidad de la tuberculosis corresponde a VILLEMÍN, médico militar francés, que fué capaz de producir experimentalmente la tuberculosis en los conejos. En una oreja del animal producía una herida en la que ponía fragmentos de tubérculos y líquido puriforme sacado de las cavernas del pulmón de un tísico: "la tuberculosis es la simple consecuencia de un agente causal específico; de un virus". Esto sucedía en 1865; pero ¿quién ha visto nunca ese miasma, ese virus? No muchos años más tarde, KOCH lo descubría.

¿Y qué hicieron los mejores clínicos del siglo XIX después de LAENNEC? Acumular síntomas y estudiar con todo detalle las enfermedad es que, como dice CLAUDIO BERNARD (9), eran consideradas como objetos de historia natural que se clasifican y de los que se establece la nomenclatura. Esto es lo que representa la nosología, y para PINEL, la medicina consistía en "dada una enfermedad, encuadrarla en la nosología".

La terapéutica medicamentosa corrió pareja con el estado de los conocimientos sobre la tuberculosis. Ya antes indicamos los remedios empleados por los pueblos primitivos. En Grecia y en Roma se empleó la brea, los sedantes, el oro y el antimonio. AVICENA fué el primero que intentó una medicación intratraqueal de la tuberculosis, empleando para ello una mixtura de miel y rosas encarnadas. En el Renacimiento se utilizaron junto al opio, arsénico, azufre y calcio, un caldo de pulmón de ternera o de víbora y, en fin, cualquier droga que por un motivo u otro adquiriese actualidad. La digital, por ejemplo, la empleaba el propio WILLIAM WITHERING, que tuvo el gran mérito de introducir esta planta en el tratamiento de la hidropesía. En pleno siglo XVIII se consideraba como un gran remedio para la escrófula (tuberculosis) el contacto regio.

El rey cristiano de Francia tiene el poder de curar a los tuberculosos que acuden de todas partes a París en las cuatro grandes fiesta del año: Pascua, Pentecostés, Todos los Santos y Navidad. El día de la ceremonia el rey oía misa y comulgaba, después de haber confesado humilde y devotamente y de haber practicado otras devociones en los días precedentes; "poseído del fuego de la caridad" se trasladaba al lugar en donde se congregaban a veces hasta mil quinientos y dos mil enfermos, y después de las invocaciones religiosas, su majestad, ayudado por los príncipes de sangre real, de la Iglesia Romana y del gran limosnero, tocaba con su mano la cara del enfermo de arriba abajo y de lado a lado formando el signo de la cruz, diciendo: "El rey te toca y Dios te cura." El paciente, mientras tanto, estaba de rodillas, implorando el fervor divino con las manos juntas y levantadas hacia el cielo, siendo su cabeza sostenida por el médico mayor de la corte.

Las obras de LAURENS, médico de cámara, y de DUVAL, decano de la Facultad de Medicina de París, defienden en el siglo XVII este divino don de los reyes de Francia, practicado desde Clodoveo, el Franco, en el año 496, hasta Luis XIV en 1775.

Esta especie de curanderismo o cura por la fe, que fué tratado tan amablemente por STEFAN ZWEIG (10), fué practicado por MESMER (1734-1815), y en realidad no ha dejado de tener siempre adeptos. Hoy mismo vemos muchas señoras adornadas (?) con una pulsera de cobre con la pretensión de curarse el reumatismo.

En 1870 se publicó el formulario del doctor JEANNEL (11), traducido por Gómez Pamo, "que comprende más de cuatro mil fórmulas escogidas, entresacadas de todas las farmacopeas oficiales y tornadas de los prácticos más distinguidos", y he aquí, entre otras, la fórmula escogida del doctor LATOUR, consignada en dicho formulario: "La leche de una

cabra que toma con sus alimentos de doce a treinta gramos de sal marina por día ha sido propuesta para curar la tisis". Esto nos da idea de la desorientación terapéutica imperante en la ciudad que entonces se consideraba como la capital del mundo bajo el reinado del emperador Napoleón III.

PASTEUR, demostrando la naturaleza vital de las fermentaciones, venció a LIEBIG, que sólo pensaba en transformaciones química de la materia sin influjo alguno de la vida, y en el mismo año (1859) que DARWIN publicaba su Origen de las especies, él estudiaba la vida de estos organismos inferiores, a los que dió el nombre de microbios. ¿No serían gérmenes de este tipo microscópicos los que produjesen el hedor de los hospitales? LISTER aplicó a las heridas el fenol, que entonces se utilizaba para sanear las cloacas. La cura era brutal, pero eficaz; luego se perfeccionó, y la cura de lord LISTER salvó la vida de numerosos enfermos que padecían heridas abiertas¹.

Algunos años antes que LISTER, SEMMELWEIS (12), en el Hospital Obstétrico de Viena, tuvo la clara visión de que los médicos producían gran número de infecciones puerperales por lo que llamaríamos hoy falta de asepsia, y hasta era frecuente que, tras practicar los médicos y sus ayudantes alguna autopsia, hicieran intervenciones obstétricas. Obligando a los médicos y a sus ayudantes a lavarse cuidadosamente las manos antes de intervenir a las parturientas consiguió SEMMELWEIS, en 1846, reducir notablemente la infección y la muerte de sus enfermas.

PASTEUR fué también el primero en descubrir que una enfermedad, la que atacaba al gusano de seda destruyendo una gran industria de Francia, era producida por un microbio. La primera enfermedad del hombre y de los animales en que se vió como agente causal un microbio fué el carbunco. El *Bacillus anthracis* o bacteridia carbuncosa fué entrevisto por POLLENDER en 1849. ROBERTO KOCH logró cultivar este germen en suero sanguíneo y demostró su esporulación.

¹ Para dar idea de lo que a mediados del siglo pasado representaba una herida abierta reproducimos de la obra de ORIOL ANGUERA los siguientes datos relativos a la guerra de Crimea: "El ejército francés se componía de 309.268 soldados, de los cuales perdió 10,240 en la lucha y 85.375 en el hospital. En otros términos, el hombre enfermo o herido era hombre muerto. Las estadísticas arrojan números aterradores: 1.681 heridos en el muslo, a los que se les tuvo que cortar la pierna y resecar el fémur, murieron de la operación 1.546. Según el doctor CHENU, las amputaciones de tibia eran mucho mejor soportadas, puesto que de 1.000 operados, ¡sólo habían muerto 701!"

"La estadística es todavía más desesperante si se tiene en cuenta que morían más, ¡ muchos más! soldados entre los operados que entre aquellos que, sufriendo de la misma herida, no se dejaban operar. El cotejo es el siguiente: de 1.666 enfermos operados murieron 1.531; de 487 que tenían la misma lesión y no fueron operados murieron 333. En otras palabra : Que, dejando los enfermos heridos a la buena de Dios, moría un 68,36 por 100. Y añade CHENU: "El fracaso de la Cirugía era tanto más desesperante cuanto que los cirujanos trabajaban ardentemente y con la mejor buena fe", a lo que se nos ocurre desear menos ardor e inspiración divina al cirujano por si un día se presenta un galeno de mala fe ..."

La figura de ROBERTO KOCH es bien conocida. Fué, sin duda, el más acabado técnico bacteriológico. El 24 de mayo de 1882 (13) comunicó el descubrimiento del agente productor de la tuberculosis a la Sociedad de Fisiología de Berlín. La resonancia de este descubrimiento colocó a este sabio en la cumbre de la ciencia.

Bien estudiada ya la tuberculosis por LAENNEC, demostrada su naturaleza contagiosa por VILLEMEN y sabiendo, gracias a KOCH, que el agente casual era un microorganismo de los que PASTEUR había designado con el nombre de microbios, la terapéutica de la tuberculosis entra en lo que podría llamarse su fase científica.

Pero ¿cómo combatir al bacilo descubierto por Koch?

Immunoterapia antituberculosa.- Fué también el genio de PASTEUR el que descubrió el modo de prevenir las enfermedades microbianas al observar que cultivos viejos del germen del cólera de las gallinas, mantenidos largo tiempo en la estufa de cultivo, continuaban vivos, pero desprovistos de poder patógeno y eran capaces, una vez inoculados, de prevenir los efectos patógenos de cultivos activos y virulentos; y comprendió la semejanza entre esta observación y la transmisión de la vacuna (enfermedad de la vaca) de JENNER, por lo que aplicó a este medio profiláctico del cólera de las gallinas la denominación de vacunación. El 25 de mayo de 1880 se expresaba en estos términos en la Academia de Medicina de París: "Creo en la inmunidad de origen (de la viruela y de la vacuna), apoyándome en los resultados de mis experiencias, mediante las cuales obtengo tanto un virus activo que mata todos los animales inoculados, como un virus atenuado cuya inoculación preserva del virus más activo a modo de verdadera vacunación; obtengo, pues, una verdadera vacuna del cólera de las gallinas."

Posteriormente, el sabio francés estudió la rabia. Todos conocéis estos famosos trabajos. Los que hayáis visitado el Instituto Pasteur en París recordaréis el grupo escultórico que representa el acto heroico de Jupille, el pastorcillo, luchando con un perro rabioso para que el animal no mordiese a sus compañeros. ¡Con qué emoción pudo ver PASTEUR que éste su segundo enfermo no moría rabioso, al igual que el niño alsaciano, al que en julio de 1885 salvó de una muerte cierta! Esto hizo de PASTEUR un ídolo de la Humanidad, que veía en él un enviado de Dios.

Para la ciencia terapéutica se abría un nuevo camino, KOCH, que tanto criticó a PASTEUR (lo que no fué obstáculo para que años después él mismo montase un servicio de vacunación antirrábica en Berlín siguiendo las técnicas del sabio francés), pensó luchar contra su bacilo estudiando el modo de preparar una vacuna antituberculosa. El problema era difícil,

pues había que empezar por encontrar un adecuado medio de cultivo, lo que KOCH consiguió, finalmente, utilizando suero sanguíneo mediante una depurada técnica que hoy practica cualquier ayudante de laboratorio, pero que entonces suponía una difícil innovación. Tras varios años de experimentos conducidos con el mayor secreto, en el Congreso Internacional de 1890, pudo KOCH dar a conocer su famoso hallazgo (14).

Los términos en que se expresó el sabio alemán ante el Congreso Internacional de aquel año fueron los siguientes: "Después de muchos ensayos infructuosos, por fin he encontrado sustancias que no solamente in vitro, sino también en el organismo animal, son capaces de detener el desenvolvimiento de los bacilos tuberculosos. Mis investigaciones no están aún terminadas, y todo lo que hoy puedo decir es que los cobayas, muy sensibles a la tuberculosis, como ya sabéis, no se contagian después de haber estado sometidos a esta sustancia e inoculados inmediatamente con el bacilo tuberculoso; además, estos animales, después de haber sido fuertemente atacados de tuberculosis generalizada, sanan definitivamente si han sido tratados con este producto, que por sí mismo no les es nunca nocivo. "

Al remedio que preparó en el otoño de aquel mismo año lo distinguió con el nombre de tuberculina, y posteriormente fué conocida con el nombre de tuberculina vieja (*Alt Tuberkulin*).

Pero antes de entrar a examinar los medicamentos antituberculosos de esta fase científica, comenzando por la tuberculina, considero necesario que digamos algo del bacilo descubierto por KOCH, para poder comprender, de una parte, la índole de los medicamentos inmunológicos, y de otra, las dificultades que presenta el conseguir nuevos medicamentos antituberculosos.

Bacilo de Koch- Bacillus tuberculosis, bacilo tuberculoso, bacilo tuberculígeno o *Mycobacterium tuberculosis*¹. Bastoncillo recto o ligeramente curvo, de 1,5 a 5 micras, provisto de una cubierta lipocérea. Es difícil de colorear, y por eso los enemigos de KOCH decían de este autor -que consiguió teñirlo- que era un "tintorero afortunado", con lo que pretendían injustamente quitar mérito al hombre del que dijo VAUNDREMER "que lo hizo todo en tuberculosis" y que fué un eminente hombre de ciencia que estableció las condiciones que un microbio debe reunir para ser considerado como específico productor de una enfermedad. Su triple postulado lo reúne el *Mycobacterium tuberculosis* a saber : 1.º Se encuentra en las lesiones tuberculosas; 2.º Se puede aislar y cultivar, y 3.º Por inoculación reproduce la misma enfermedad.

¹ El género *Mycobacterium* comprende una serie de gérmenes de tipo bacilar, rectos o ligeramente incurvados de tinción difícil, ácidoalcohol resistentes. En los medios sólidos dan cultivos prominentes, rugosos y de aspecto seco. Originan, como lesiones anatomopatológicas típicas, granulomas específicos de evolución generalmente crónica. A este grupo pertenece como miembro destacado, a más del bacilo tuberculoso, el de la lepra (HANSEN, 1874).

Su protoplasma no es uniforme, sino que presenta granulaciones no ácidosresistentes (gránulos de Much, considerados indebidamente como esporas por algunos bacteriólogos). Estos son los caracteres del bacilo adulto. Antes de llegar a este estado pasa por una serie de fases que URGOTI y RODRÍGUEZ PÉREZ (15) han estudiado, y que son las siguientes: 1.º Formas cocáceas : 2.º Bacilos cianófilos; 3.º Bacilos ácidosresistentes y con granos que no resisten a la decoloración por los ácidos, y 4.º Formas bacilares ácidosresistentes con granos del mismo carácter. Muy interesante es la tan debatida cuestión de formas filtrables, descritas por FONTES en 1920, lo que podría hacer pensar en el paso del bacilo a través de la placenta, cosa al parecer muy dudosa, ya que hoy se admite generalmente que no hay heredo tuberculosis, aunque sí puede heredarse la predisposición a adquirir la enfermedad.

Esto en cuanto a la ontogenia. Respecto a la filogenia, para FERRÁN el bacilo de Koch sería en su primera fase (alfa) saprofito, y muy abundante en todos los medios naturales (aire, agua, etc.), siendo muy fácil su ingreso en el intestino del hombre y de los mamíferos, de los que se eliminaría por las heces. Al atravesar la pared intestinal pasaría a la fase beta y originaría procesos triviales. Tras esta fase intermedia daría paso a la gamma, ya ácidoalcohol resistente, que es la productora de la tuberculosis propiamente dicha, pero que aún puede transformarse en otra, delta, comparable con los gránulos de Much, y todavía podría existir una última fase épsilon. Estas varias formas serían responsables de las diversas manifestaciones de la tuberculosis.

Existen fundamentalmente cuatro tipos de bacilos: el humano, el bovino, el aviar y el pisciario. Parece que mediante determinados pase, pueden transformarse unos tipos en otros, y sobre todo tiene interés el saber que el de la vaca, en la que produce la enfermedad perlada, puede pasar por la leche a la especie humana infectándola de tuberculosis. Esta forma de adquirir la enfermedad por el hombre no tiene tanta importancia como la del contagio producido por los microbios expulsados por los tuberculosos en los esputos cuando tienen lesiones pulmonares abiertas. Los gérmenes conservan largo tiempo su vitalidad en el aire y en el suelo, y sobre todo en las gotitas de Flügge, por lo que la convivencia con un enfermo "productivo" es tan peligrosa, pues también tiene importancia la cantidad de microbios que atacan la economía. Un tuberculoso con lesiones abiertas se calcula que puede expulsar con la expectoración 500 millones de bacilos al día.

Los microbios llegados al aparato digestivo o a las vías respiratorias anidarían, y desde el lugar de implantación, por vía linfática, llegarían a los ganglios. en los que pueden estacionarse durante largo tiempo. En los niños se observan frecuentemente estas adenopatías, pudiendo producir más tarde, por vía hemática y linfática. no reinfecciones, como corrientemente se dice, sino verdaderas metástasis en cualquier órgano, y de preferencia en el pulmón, en donde pueden propagarse por vía canalicular. Ge-

neralmente se admite que en la especie humana la tuberculización ocurre en los primeros tiempos de la vida, y luego, tal vez al cabo de muchos años, vuelve a reactivarse, pues son raros los autores que admiten una segunda primoinfección por haberse curado la primera. Puede suceder, no obstante, que haya sujetos que no sufran la primoinfección hasta edades muy avanzadas; incluso se han registrado casos de este tipo en sexagenarios (16).

La lesión característica es el tubérculo miliar, visible en el órgano del tamaño de un grano de mijo, estando constituido por la agrupación de una serie de folículos tuberculosos. Al anidar el *Mycobacterium* se produce una destrucción de las células y del cemento intercelular con una exudación inflamatoria; al romperse las membranas se unen las células por el protoplasma, resultando una formación proliferativa. El folículo queda desprovisto de toda irrigación sanguínea y constituido según dos tipos. El descrito por BAYLE está formado por un centro caseificado, amorfo, rodeado de células gigantes de Langhans, con numerosos núcleos, a veces hasta ciento, envueltas a su vez en una agrupación de células epiteliales de procedencia conectiva y de histocitos y, más allá, de una barrera de linfocitos. El bacilo de Koch suele encontrarse dentro de las células gigantes. En el tubérculo de Laennec, la barrera epitelioides y la fagocítica no están tan marcadas, predominando la masa caseificada rodeada sólo de polinucleares y de algún linfocito. Generalmente, el tubérculo de Bayle puede cicatrizar por su transformación fibrosa, pero el de Laennec conduce habitualmente a la caseificación progresiva. Otro tipo es la neumonía caseosa. Las cavernas y las tuberculosis cirróticas son ya formaciones secundarias.

Las lesiones de la enfermedad experimental tienen un cuadro muy parecido al descrito. El animal generalmente empleado es el cobaya, que, al decir de algún autor, es "rabiosamente tuberculoso". Puede sentarse la premisa de que todo cobaya inoculado con cultivos virulentos de bacilo de Koch humano o de productos patológicos que lo contengan, contrae la enfermedad y de ella muere. La inoculación puede hacerse en la conjuntiva o transcutánea, intraperitoneal o intramamaria, pero la subcutánea es la preferida y la más frecuentemente empleada. Tras la inoculación subcutánea se forma, aunque no de un modo constante, un nódulo que luego se necrosa (chancro tuberculoso) y hacia el décimoquinto o vigésimo día se abre al exterior. Los ganglios de la región se tumefactan y luego el animal enflaquece, muriendo en un tiempo variable. La autopsia muestra extensas lesiones tuberculosas. El bazo está engrosado, pardo amarillento, pleno de granulaciones o de focos caseosos. Aunque no tan frecuentes, iguales lesiones se observan en el hígado. Tubérculos grises o blancos salpican las serosas, riñones y pulmones. Los ganglios próximos al lugar de la inoculación están reblandecidos y son caseosos.

FELDMAN (17) expresa el grado de la infección de acuerdo con la figura siguiente, en la que además se indica el lugar de la inoculación y el número de días de supervivencia a la misma.

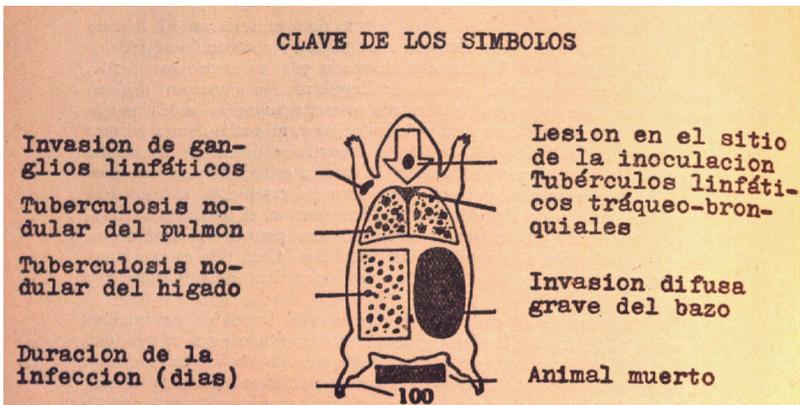
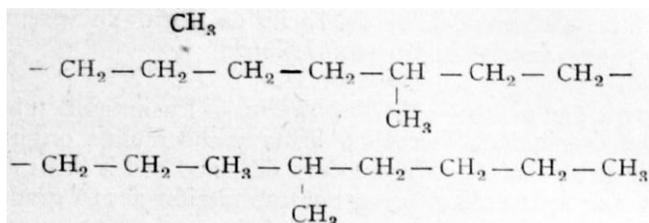


Fig.1.-Representación esquemática de un cobaya mostrando los órganos generalmente afectados en la inoculación tuberculosa. Está indicada la intensidad de la enfermedad observada en el bazo, pulmones e hígado. (Según Feldman, W.H. y Hinshaw, H.C.: Ensayos quimioterápicos en la tuberculosis experimental; sugerencias de métodos de laboratorio para ensayos de sustancias antituberculosas en animales infectados experimentalmente. Am. Rev. Tuberc., 511582-591 (Junio) 1.945)

Bioquímica del bacilo de Koch.- En el Congreso de Tisiología celebrado en San Sebastián en agosto de 1912, CARRACIDO (18) trató de este tema con toda la elocuencia y sabiduría de que él era capaz; pero en aquella época sólo pudo exponer que la cubierta lipoidea era la responsable de la ácidorresistencia, que en los medios glicerizados el bacilo se desarrollaba mejor porque la glicerina servía para la síntesis de las grasas ni esterificarse con los ácidos grasos, a los que consideraba como un producto tóxico del metabolismo, y que en el germen, la grasa representa una degeneración que se produce por mutación súbita de otro germen preexistentes ácidorresistentes.

La composición química del bacilo de Koch ha sido estudiada en la Universidad de Yale por ANDERSON y sus colaboradores, viendo que la materia lipocérea está formada por glicéridos, fosfátidos y ceras. POLGAR ha precisado la composición de los ácidos grasos, que son interesantes

por su toxicidad y capacidad de producir lesiones en los animales experimentales. El ácido saturado ftioico es representativo de una serie que puede aislar, del cuerpo bacilar, y parece que su fórmula, desarrollada sería:



Ácido 3 — 13 — 19 trimetil tricosenoico

Algunos ácidos sintéticos de este tipo y otros no saturados obtenidos artificialmente son marcadamente tóxicos. Para POLGAR, los grupos metílicos pueden ocasionar deshidrogenaciones en los cuerpos sobre los que actúen, que podrían producir un antagonismo con los ácidos saturados esenciales para el microbio.

Las lesiones que obtiene UNGAR (9) por inyección intraperitoneal de estos cuerpos son del tipo de focos granulomatosos, localizados principalmente en el momento, y están constituidos por células epiteliales, monocitos y grandes células de Langhans con áreas centrales necrosadas. Por inyección intradérmica producen una reacción local indurada, pero en cobayas tuberculosos ni producen reacciones específicas ni vacunantes contra cepas de bacilos humanos. El tiempo se encargará de decirnos las derivaciones prácticas que estos estudios puedan llegar a tener.

También contienen los bacilos de Koch una buena proporción de polisacáridos, compuestos básicos y materias proteicas solubles en el agua, una de las cuales parece ser el principio activo de la tuberculina. PEDERSEN (20) demostró la cualidad antigénica de las porciones fosfática y proteínica, CHOUCROUN (21) ha comunicado recientemente la presencia de una fracción tóxica en extractos de bacilos preparados con aceite de parafina, que sería responsable de una resistencia adquirida contra el *Mycobacterium*. Se trata de un éster del ácido micólico con un polisacárido que estaría relacionado con el antígeno de BOIVIN (22). Las reacciones tardías de la tuberculina las ha producido RAFFEL (23).

También se encuentra una materia aromática, a la que se ha llamado hialinol. Según GORIS y SABETAY (24), el olor típico del bacilo de Koch se

debería al alcoholfeniletílico, que ellos han conseguido aislar de este germen.¹

El metabolismo intermedio del bacilo de Koch fué estudiado por diversos autores (25). De particular interés es la observación de BERNHEIM (26), quien, mediante el método de Warburg, para medir el consumo de oxígeno del *Mycobacterium*, en presencia de diversos metabolitos, observó que los benzoatos y salicilatos incrementaban el consumo de oxígeno, sugiriendo que sustancias de este tipo podrían desempeñar un papel en el metabolismo celular del bacilo de Koch. Ya veremos después la aplicación que de este hecho sacó Lehman.

Immunoterapia activa.-Alt Tuberkulin. - La antigua tuberculina de Koch se llamó también tuberculina bruta y tuberculina original (T. O.) y linfa original. Se trataba de cultivos de cinco o seis semanas en caldo glicerinado que se esteriliza luego por calefacción a 110 grados, durante una hora, después se concentra en baño de maría hasta un décimo del volumen primitivo, y se hace luego una filtración grosera por papel grueso para separar los cuerpos microbianos. Es un líquido parduzco, siruposo, límpido de olor agradable. Se trata, por tanto, de un extracto glicérico de bacilos, mezclado con productos microbianos difundidos en el caldo y con los principios constitutivos del medio. La tuberculina es resistente al calor, incluso a 250 grados, pero en cambio, se destruye en contacto del aire.

KOCH creyó en la eficacia terapéutica de la tuberculina. "Sólo en casos muy avanzados, en presencia de cavernas pulmonares -decía-, ya no podemos pensar en la curación; lo más que conseguiremos es una ligera mejoría." La valoración o titulación de esta tuberculina está fundada en que, como demostró KOCH, los animales tuberculosos reaccionan de distinta manera que los sanos ante la inyección de un antígeno específico, del que constituye un buen ejemplo la tuberculina.

Una dosis muy pequeña, de muy pocos miligramos de tuberculina, es suficiente para matar a un cobaya tuberculoso, frente a un resultado nulo en caso de que la inyección se realice en animal sano y sin tuberculización anterior.

Para ROCH, una tuberculina sería utilizable cuando 0,5 c. c. de ella basten para matar un cobaya que cuatro o seis semanas antes fué tuberculizado por inoculación de un germen tuberculoso virulento. La muerte debe acontecer en las veinticuatro horas que siguen a la inyección de tuberculina.

Las ilusiones de su autor, pronto compartidas en el mundo entero,

¹ Sobre el metabolismo en la tuberculosis y la bioquímica del bacilo de Koch explicó unas interesantes conferencias, el profesor ABDULIO FERNÁNDEZ en la Escuela Nacional de Sanidad y en el Colegio Médico de Madrid (27).

se desplomaron rápidamente, y ante su fracaso se prepararon otras tuberculinas.

Tuberculina residual (T. R.) 1897.- También denominada tuberculina nueva, fué el segundo preparado de este tipo obtenido por el propio ROBERTO KOCH, de la siguiente manera: los cultivos puros de bacilos tuberculosos se secan en el vacío y se trituran en máquina al efecto. Se emulsionan en agua, vuelven a triturarse, y por centrifugación se separa el sedimento. El líquido que sobrenada se vierte y se emplean los extractos posteriores acuosos obtenidos por trituración, que después se centrifugan concentrando por evaporación.

Con esta tuberculina residual, Koch consiguió inmunizar conejos por repetidas dosis: cada vez mayores y manejadas con extremado cuidado.

No todos los investigadores (BAUMGARTE entre ellos) consiguen repetir los ensayos de inmunización señalados por Koch; en ellos obtuvieron frecuentemente resultados nulos, o al menos contradictorios.

En vista del fracaso de las anteriores, el propio R. KOCH preparó otras tuberculinas, de las que las más importantes fueron las que siguen:

Tuberculina alcalina (T. A.) .- Obtenida por extracción con la sosa; presenta caracteres semejante a la T. O. (tuberculina antigua), y con el inconveniente sobre ésta de producir abscesos, debidos a los restos bacilares que en ella van en bastante abundancia.

La Emulsión bacilar (B. E.) 1911.-Identificable con la tuberculina nueva (Neutuberkulin), es una simple emulsión de bacilos tuberculosos que estuvo en boga durante un breve período, cayendo rápidamente. en desuso.

La *Albumose frei (A. F.)*, o tuberculina obtenida con cultivos en medios especiales que no llevan ni carne ni peptona, contiene una gran concentración de albuminoides, debidos al metabolismo y actividad del germen tuberculoso.

A continuación de los anteriores ensayos y preparados elaborados por KOCH, y ante la idea de conseguir una auténtica curación de la tuberculosis por productos de esta serie, salieron a la luz muchas otras tuberculinas, entre las que destacan la tubérculoalbúmina, o tuberal de Thamm ; la C-tulasa y la V-tulasa, de Behring ; la tuberculina de Beranek, la de Deny, la tubérculoplasmina de Buckner y Hata, 1898; la tuberculina de Rosenbach, Maragliano, Spengler; tubérculocidina de Kehls, 1891; oxi toxina de Hirschfelder, 1897, etc.

Entre ellas, la tulasa, preparada por BEHRING, lo es a base de tratamiento de los bacilos por medio del cloral, y según dicho investigador, posee una acción curativa estimable en la tuberculosis, idea que fué en seguida totalmente desechada. La tuberculina de Rosebach se obtiene por filtrados de cultivos de bacilos tuberculosos en asociación con los hongos de las tiñas. Por último, la tuberculina preparada por Friedman se

obtiene por filtrados de gérmenes tuberculosos aislados de la tortuga de mar.

La acción curativa de las diversas tuberculinas enumeradas es muy escasa; a lo más, se emplean en la actualidad con grandes precauciones y asociadas a otros productos y preparados como coadyuvantes en el tratamiento de ciertas formas de tuberculosis pulmonar y de otras localizaciones.

Realmente, como veremos después, las tuberculinas sirven preferentemente, o de un modo casi exclusivo en la actualidad, para el diagnóstico de los procesos específicos; sin embargo, es curioso que obras modernas como la de WEBER, publicada en Viena en 1948 (28), concede una gran extensión a la tuberculinoterapia, VALLEJO SIMÓN (30) precisa el cuidado con que hay que manejar este fármaco con fines terapéuticos.

Consideraciones generales sobre la vacunación antituberculosa.-En la lucha que el enfermo sostiene contra el agente tuberculoso infectante no se produce una verdadera inmunización. Generalmente, se admite que la tuberculosis no se cura nunca, y que no se produce jamás una auténtica inmunización. Pero, sin embargo, el hombre, o el animal tuberculizado no reacciona contra el *Mycobacterium*, como el hombre sano. He aquí el llamado fenómeno de Koch si se inocula a un cobaya sano un cultivo de bacilos responde de la manera descrita anteriormente; pero, ahora bien: si a un animal así infectado se le reinocula al cabo de cuatro o seis semanas después, se comporta de modo muy diferente. En él no se forman nódulos en el punto de la segunda inyección, pero en cambio, al día siguiente o a los dos días este punto se indura, tomando una coloración rojo violácea y después negruzca. Unos días después la piel se necrosa, eliminándose posteriormente y quedando en su lugar una úlcera superficial que cura rápidamente, de una manera definitiva, sin que los ganglios vecinos se infecten. Este efecto lo produce igualmente la tuberculina, los bacilos muertos, los avirulentos y aun los bacilos desengrasados.

Se debe este fenómeno a un estado particular de alergia (VON PIRKET), que en el caso de la tuberculosis tiene la mayor importancia, pues el enfermo reacciona de un modo especial, más sensible, a la nueva infección contra la que no está inmune.

Sería mi deseo ocuparme de esta cuestión con algún detalle, pero me es totalmente imposible, dada la obligada extensión de este trabajo. Al lector del mismo le remito a las excelentes memorias que sobre el particular han publicado GRACIAN (29) y VALLEJO DE SIMÓN (30).

Otro tipo de vacunación sería la antialfa de Ferrán, fundada en los estudios de este autor sobre la filogenia del bacilo, y completamente abandonada en la actualidad.

Recientemente, GASTÓN DE IRTARTE (31), entre nosotros, ha dado a conocer una vacuna preparada partiendo de la consideración de la lentitud de desarrollo del bacilo de Koch, que necesita un tiempo de diez a treinta días para presentar fases aparentes de desarrollo en un cultivo, y otros

diez a treinta días para presentar manifestaciones visibles en los animales inoculados. Inspirado en los trabajos de FONTES, quiso comprobar la existencia de fases filtrables del germen y la posibilidad de reconocer algunas formas visibles de bacilos distintas a las conocidas hasta hoy.

Inyecta a los cobayas los productos obtenidos por filtración de un cultivo de bacilo virulento previo tratamiento con lámpara de cuarzo y separados diariamente a partir de las veinticuatro horas de practicada la siembra, hasta el día o dos días antes de que el cultivo muestre todos los caracteres típicos del desarrollo completo. A los cobayas así preparados les inyecta estos mismos bacilos, siendo imposible conseguir su tuberculización por vía submamaria, intraperitoneal, intrapleuraleal ni otra alguna, ni aun por pulverización en tráquea de suspensiones de gérmenes. Sin embargo, estos mismos gérmenes tuberculizan a cobayas de la misma camada, produciéndoles manifestaciones típicas dentro de los quince a treinta días siguientes, como la infartación típica de los ganglios inguinales con las lesiones tuberculosas clásicas en los exámenes *post mortem*.

Este autor consigue, por tanto, una vacunación no sólo preventiva sino curativa. Hasta ahora (32) ha tratado trescientos cincuenta casos de tuberculosis humana con resultados satisfactorios y alentadores, por lo que las autoridades españolas han puesto recientemente a su disposición los elementos necesarios para llevar a buen término los ensayos tan felizmente iniciados por nuestro compatriota.

Capítulo aparte merece el bacilo Biliado Calmette Guerin, generalmente conocido como B. C. G., por la copiosa información que poseemos, demostrativa del interés que ha despertado en el mundo entero. El descubrimiento del B. C. G. no es un hecho casual, sino el resultado de una noble y tenaz labor. Tras fundar Calmette el Instituto Pasteur, de Lille (1893), fundó igualmente, ocho años después, en la misma ciudad el Dispensario Emile Roux, en el que trataba a los obreros tuberculoso, y les enseñaba los medios profilácticos. El vió que los animales bovinos que han sido infectados por el bacilo de Koch, si después se aíslan de modo que no sufran una nueva infección, padecen una tuberculosis benigna y gozan de resistencia para las infecciones experimentales, eliminando los bacilos sin más perturbación que la derivada de una pasajera reacción alérgica. El problema consistiría en encontrar un bacilo que tuviese capacidad vacunante sin llegar a producir la enfermedad. CALMETTE logró su propósito en colaboración con GUERIN, cultivando por primera vez, en 1906, el bacilo tuberculoso de la leche de una vaca en un medio biliado de patata, cuya virulencia se disminuye mediante cultivos sucesivos durante trece años. De las pruebas realizadas con bóvidos, acaso sean las más rigurosas las realizadas en Canadá, en las que claramente se mostró la inocuidad y eficacia del B. C. G. para la prevención de la tuberculosis en el ganado.

Después de mucha controversia y de la extensa aplicación de este método, sobre todo en Francia, Uruguay y Escandinavia, podemos decir que con su empleo sistemático la humanidad podrá, con el tiempo, con-

siderar a la tuberculosis como una enfermedad prevenible y de muy es casa mortalidad¹; la experiencia escandinava da derecho a llegar a esta deducción mediante la premunición² con el B. C. G.

Originariamente se empleó por vía bucal (38), pues no hay que olvidar que CALMETTE pensó que la infección tuberculosa se adquiere generalmente por vía digestiva, propagándose dentro del organismo por vía linfática. La vacunación se consigue administrando tres dosis en días alternos, durante los primeros diez días de la vida del niño. La vía oral la utilizan aún muchos autores, y entre nosotros citaremos a GÓMEZ ULLATE (39), con buenos resultados. WALGREM (40) y, en general, los autores escandinavos, emplean la inyección intradérmica, que tendría el inconveniente de dejar una señal indeleble en el lugar de la vacunación, lo que trata de evitar ROSENTHAL (41), por picaduras múltiples en la piel. Generalmente, la vía utilizada hoy, de un modo corriente, es la inyección subcutánea.

Aunque, como antes hemos dicho, la premunición por el B. C. G. se practica generalmente en los recién nacidos, de igual modo puede utilizarse, y actualmente se hace en gran escala, en cualquier edad, siendo lo fundamental para ello no estar ya infectado por el bacilo de Koch, lo que se investiga por los medios de diagnóstico habituales y por la prueba de la tuberculina. El B. C. G. confiere la inmunidad durante un tiempo variable, por lo común de uno a cuatro años (en algunos casos, hasta diez años); durante este tiempo, la reacción a la tuberculina es positiva, estando indicada la revacunación tan pronto como el sujeto se negativice a esta reacción (MALMROS) (42).

HYGE (43) publicó un interesante trabajo, en el que estudió una epidemia de tuberculosis producida en una escuela escandinava por un maestro tuberculoso. Ciento cinco alumnos reaccionaban positivamente

¹ En España, la vacunación por el B. C. G. fué iniciada en 1926 por el Instituto Llorente con el germen suministrado por el propio CALMETE. En 1929 pasaban ya de 5.000 vacunaciones las realizadas gratuitamente por este centro, empleando ya últimamente, en lugar de la oral, la vía subcutánea. Otros centros particulares y oficiales prepararon también la vacuna B. C. G. pero como consecuencia de la guerra no llegaron a realizarse grandes campañas de vacunación de ámbito nacional. El 25 de octubre de 1948 fué convocada en la Dirección General de Sanidad una reunión nacional para tratar de la vacunación antituberculosa por el B. C. G., cuyas conclusiones no conocernos en el momento en que escribimos estas líneas. Recientemente se ha celebrado en el Instituto Pasteur, de París, un Congreso Internacional sobre el B. C. G. El interés despertado ya en los Estados Unidos (33) y la obra realizada en Escandinavia y en el Uruguay (34) demuestran la importancia de este tipo de vacuna. No obstante, también tiene sus detractores. En Alemania contribuyó mucho a ello la catástrofe de Lübeck, en donde por equivocación se inyectaron bacilos virulentos vivos, que produjeron la muerte de varias personas. En Inglaterra, por ejemplo, WILSON (35) se manifiesta también en contra del B. C. G.

² *Premunición*.-Este término, propuesto por SERGENT, PARROT Y DONATIEN (36), indica la resistencia que para la infección presenta un organismo que ya alberga los microbios. Sobre este neologismo y el valor de los vocablos vacuna, vacunación, seroinfección, serovacunación, infección, inoculación y hemovacunación véase el artículo del profesor BRIDRE. (37).

a la tuberculina, ciento seis eran vacunados de B. C. G. y noventa y cuatro eran negativos. La morbilidad tuberculosa en cada grupo fué, respectivamente, de 1,9, 1,9 y 43,6 por 100.

La vacunación B. C. G. debe realizarse, sobre todo en los que están en condiciones de contagiarse más fácilmente, como, por ejemplo, los estudiantes de medicina, enfermeras y personal de sanatorios antituberculosos. En Oslo fué práctica de la Sanidad Municipal ofrecer a todos los muchachos tuberculínnegativos la vacunación siempre que así lo aconsejase su examen radiológico. Todos los que rehusaron el tratamiento (que hoy es obligatorio) sirvieron como controles o testigos. HERTZBERG (44) ha publicado ahora, después de varios años, la suerte de las personas que a la edad de trece años admitieron o rechazaron la vacunación con el B. C. G. Entre los primeros, 127 muchachos y 106 chicas, sólo uno de cada sexo contrajo la enfermedad, mientras que de 66 varones y 76 hembras que no fueron vacunados, 34 y 43, respectivamente, mostraron los signos patológicos del bacilo de Koch.

Aunque con rapidez, me he extendido algo más en este tema del B.C. G. por considerarlo como un medicamento antituberculoso de gran valía, si bien pertenece a la categoría de los preventivos, no a los curativos, pues los ensayos de curación de una tuberculosis ya declarada han sido siempre negativos, como recientemente han confirmado, entre nosotros. URIOSTE y CIVEIRA (45).

En Italia son partidarios de las vacunas preparadas con bacilos muertos. Primero, la de Maragliano, y actualmente, la llamada anatuberculina de Petraghani, preparada con micobacterias muertas por el aldehído fórmico. De Su empleo con fines profilácticos existe ya una experiencia de quince años. La vacunación se practica haciendo cuatro inoculaciones cutáneas. No requiere las precauciones que el B. C. G. exige y, según el profesor SALVIOLI (reunión de la Academia Filippo Pacini, en Pistoja, 1947), los resultados son superiores a los logrados con el B. C. G.

Otra vacuna de este tipo sería la preparada por el Instituto Nacional de Sanidad de los Estados Unidos, a partir de una cepa de bacilos tuberculosos humanos virulentos procedentes de un enfermo del estado de Tennessee, inactivados, como en la vacuna de GASTÓN DE IRIARTE por los rayos ultravioleta.

El endotoxoide tuberculoso de Grasset es un extracto preparado también de cultivos de bacilos procedentes de mamíferos. Las células bacterianas se calientan a 60 grados, durante treinta minutos, y entonces se congelan repetidamente a temperaturas de unos 30 grados bajo cero. Después de centrifugación se someten a la acción del formaldehído en presencia de medios en los que se efectúa la hidrólisis péptica. El extracto contendría la fracción hidrosoluble lipoidea, pequeña cantidad de proteínas y quizá indicios de hidratos de carbono. Los resultados obtenidos por GRASSET (46) en enfermos tuberculosos parecen alentadores, pero el producto se encuentra aún en período experimental.

Antes de terminar este capítulo queremos consignar los ensayos de

SCHAIN y PETROFF, acerca del poder inhibitor del toxoide diftérico sobre los cultivos de bacilos tuberculosos *in vitro* y en el cobaya, basándose en los resultados conseguidos con este medicamento en los leprosos y partiendo, además, del hecho de existir, según KRAH y WITEBSKY (48), cierta sustancia antigénica común entre algunos bacilos diftéricos y el bacilo tuberculoso, No parece, a nuestro juicio, que esta terapéutica tenga mucho de racional, y los ensayos de FELDMAN y MOSES (49) han podido demostrar el escaso influjo, si es que existe alguno, de la anatoxina diftérica en el tratamiento de la tuberculosis experimental en el cobaya.

Inmunoterapia pasiva.-Solamente con un fin histórico cabe mencionarla, toda vez que no se usan en la actualidad ni los diversos sueros preparados por MARAGLIANO, MARMOREK, LANELONGE, ACHARD y GAILLARD ni, en fin, los de VALLÉE, JOUSSET, RUPPEL y RIKMANN y RAPPIN. El lector que desee tener cierta idea sobre todos ellos puede consultar alguna obra especial como la de DOPTER y SACQUEPÉE (1) y la de SIROVI (47).

Quimioterapia.-La distribución del plomo en los tejidos, que tiene lugar en la intoxicación saturnina, llevó a PAUL EHRLICH, cuando aún era estudiante de Medicina, a investigar la distribución de las materias colorantes en los organismos vivos y, posteriormente, a la concepción de un ataque dirigido contra los gérmenes patógenos sin dañar al organismo infectado. Es decir, a la busca de cuerpos químicos que al igual que una bala mágica, dieran en el blanco microbiano sin perjudicar al hombre enfermo. En un principio, pensaba lograr esto mediante una sola dosis de un medicamento cuyo parasitotropismo fuese mayor que su organotropismo; esto es, que tuviera un elevado índice quimioterápico. Así se conseguiría lo que él llamaba *Therapia sterilians magna*. Hoy sabemos que no existe ninguna droga que no sea también, al mismo tiempo que perjudicial para el microbio, algo tóxica para el enfermo.

Los medicamentos que llenasen este objetivo de EHRLICH se llamarían quimioterápicos, y la ciencia que se ocupase de su estudio sería la Quimioterapia. Su concepción de quimiorreceptores y cadenas laterales resulta hoy un poco pintoresco, pero no cabe duda que el influjo científico del sabio alemán fué colosal y que gracias a él se ensayaron miles de compuestos, algunos de los cuales, como los antilúéticos por él descubiertos, continúan prestando todavía un gran servicio a la Humanidad.

Es natural que su mayor interés se polarizase en el estudio de los antiprotozoarios. En contra de lo que sucede con las bacterias que, actuando como antígenos por sus endotoxinas y exotoxinas, dan lugar a reacciones defensivas, los protozoarios no ocasionan en el organismo la producción de anticuerpos; por esta razón, el combatir este tipo de enfermedades requería nuevos métodos, diferentes de los inmunoterápicos iniciados por PASTEUR. El sistema propuesto por EHRLICH se mostró sumamente in-

teresante gracias a su ciencia, a su imaginación, a su optimismo, a su fe y a su incansable trabajo, que constituyeron la base de sus descubrimientos.

Si se define la Quimioterapia por su significado etimológico, diríamos que es la ciencia que se ocupa del tratamiento de las enfermedades por agentes químicos, lo cual no representaría ciertamente ninguna novedad. TIFFENAU cree que debe definirse como la ciencia que abarca todas las investigaciones sistemáticas encaminadas al descubrimiento de nuevos medicamentos químicos, no sólo para curar diversas enfermedades infecciosas o no, sino también para aliviar sus síntomas. Para FOURNEAU, la Quimioterapia es la ciencia de la desinfección interna, en lo que coincide KOLMER, haciendo resaltar que no es preciso que la sustancia haya sido producida artificialmente en el laboratorio.

En este sentido, el empleo del mercurio en la sífilis desde el siglo XV, de la quina e ipecacuana desde el siglo XVIII, para combatir el paludismo y la disentería amebiana, respectivamente, es verdadera quimioterapia, de origen empírico, pero indiscutible por su eficacia.

Así como la quimioterapia de las enfermedades protozoarias progresó de un modo notable y proporcionó éxitos tan extraordinarios como la germanina (Bayer 205 y Fourneau 309) para el tratamiento de la enfermedad del sueño, las enfermedades bacterianas, por el contrario, se mostraron muy resistentes a este tipo de medicamentos químicos, y hasta después de 1935, en que se introdujeron las sulfamidas, no se dejó de trabajar en este sentido; pero todos los resultados fueron poco alentadores.

Los primeros ensayos para combatir la tuberculosis en los animales por medio de sustancias químicas fueron realizados por el propio KOCH un año antes de anunciar el descubrimiento del bacilo que lleva su nombre. Habiendo visto el poder antiséptico del cloruro mercúrico en los cultivos de la bacteridia carbuncosa, lo ensayó en la tuberculosis con resultados negativos. En 1890 obtuvo, igualmente, resultados negativos con las sales de oro (cianuro y cianuro doble de oro y de sodio). Todos los ensayos realizados para tratar la tuberculosis y otras enfermedades bacterianas con productos químicos definidos eran pocas esperanzadores. A principios del siglo actual sólo se pensaba en la posibilidad de combatir estas enfermedades mediante las vacunas y los sueros. El anuncio, en 1904, por EHRLICH y SHIGA, del descubrimiento del tratamiento eficaz de la tripanosomiasis (*Tr. equinum*) por un cuerpo químico sintetizado con esta finalidad despertó gran entusiasmo, y la introducción del 606 para combatir la sífilis en el hombre, hecha por EHRLICH y HATA (50), hizo entrever la posibilidad de combatir las enfermedades microbianas por productos químicos. A partir de entonces se ensayaron millares de sustancias sintéticas en toda clase de enfermedades microbianas.

En el caso particular de la tuberculosis, citaremos que LEWIS, en colaboración con KRAUS (51), estudiando la acción bacteriostática y bactericida de múltiples cuerpos de la serie del trifenilmetano, vieron que eran más eficaces contra los neumococos y estafilococos que contra el bacilo de la tuberculosis. Los azoicos inhibían mejor que otros colorantes los

cultivos de *Mycobacterium tuberculosis*. El rojo tripán y el azul tripán, muy interesantes en sí por su capacidad de penetración en el asiento mismo del bacilo dentro del tubérculo, se mostraron, sin embargo, ineficaces (DE WITT (52) y otros). En vista de esto, se introdujo en la molécula de estos cuerpos yodo, fenol y diversos metales, con lo que se consiguieron cuerpos activos *in vitro* pero no *in vivo*. Lo mismo sucedió con los más variados compuestos de azul niágara; y al igual que los compuestos anteriores, un derivado de este colorante, en cuya molécula entraba el ácido fórmico, era activo *in vitro*; pero a pesar de penetrar dentro del tubérculo resultaba muy poco eficaz.

De las varias combinaciones de diazocreasotas, algunas eran eficaces *in vitro*, incluso en diluciones de 1: 100.000, y parecían prolongar la vida de los animales de experimentación. Como es natural, también se pensó que, dada la índole de la cubierta del bacilo, los colorantes de las grasas serían especialmente activos; pero los trabajos de CORPER (53) bien pronto pusieron de manifiesto que esto no sucede en la tuberculosis experimental del cavia.

De todos los colorantes, sin duda son los del grupo del azul de metileno los que más atención han merecido. O. FERNÁNDEZ (54) nos decía que más de dos mil indulinas se habían ensayado en la tuberculosis. DE WITT vió que diluciones de 1:10.000 eran bacteriostáticas *in vitro*, e incluso bactericidas al 1:100; pero también en la enfermedad del conejillo de Indias Su eficacia resultó muy dudosa (55).

De otros grupos de cuerpos utilizados en investigaciones quimioterápicas antituberculosas se hicieron muchísimos trabajos, empezando por el mercurio, ya ensayado por KOCH y por CORNET (56), utilizando el vapor del mercurio y el cloruro mercuríco. DE WITT ha ensayado múltiples derivados de este metal, entre ellos el del azul de tripán; con los que obtuvo mejores resultados fué con el mercuriofrén y el mercuriocrón, que si bien no curaron la enfermedad, alargaron la supervivencia a la infección (57). Los compuestos de cobre también recibieron la atención de los investigadores; el propio DE WITT ensayó la sal de cobre del azul de tripán (58), observando, sin embargo, que no se absorbía del lugar de la inyección. Las impresiones optimistas de VON LINDEN (59), que pensaba que el cobre se conjugaba con los ácidos grasos del bacilo tuberculoso, están en desacuerdo con SELTER (60). Entre los medicamentos recientemente introducidos, a base de cobre, podemos citar el Ebesal, de la casa Bayer, que es el alitioureobenzoato de cobre, y según PERSCH (61), sería bien tolerado a la dosis de 10 miligramos por kilo de conejo en inyección intravenosa, beneficiando a los enfermos que no pudieran medicarse con oro. Sin embargo, SCHELDTER y RÖDINGER (62) no observaron efectos beneficiosos de este cuerpo en 20 casos de tuberculosis pulmonar. Otro compuesto interesante del cobre sería el Cianocuprol (mezcla de dos partes de cianuro y una de cianato), que se usó bastante en el Japón con resultados aparentemente buenos en algunos casos, aunque KOLMER no ha sido capaz de comprobar esta eficacia, y en la actua

lidad no se emplea. CORPER (63) indica que el cobre se absorbería en forma coloidal y no penetraría en el tubérculo.

Gran interés despertó en Francia el empleo de ciertos sales de cerio samario, neodimio, praseodimio y otras tierras raras. Según GRENET y FROUIN (64), reducirían la proporción de las grasas de los bacilos cultivados y aumentarían la linfocitosis, favoreciendo la esclerosis de los tubérculos en los animales de experimentación (65). El hecho de que en las regiones industriales en donde se quema mucho carbón, con producción de bastante bióxido de germanio que pasa al aire, la tuberculosis sea menos frecuente, a pesar de las condiciones, bastante insanas, en que viven los mineros, indujo a SCHWARTZ y SCHOLZ (66) a ensayar el germanio en la tuberculosis, pero los resultados fueron desalentadores.

Los compuestos de yodo también se han estudiado con gran interés desde que, en 1907, LOEB (67) y LOEB Y MICHAUD (68) observaron que el tejido tuberculoso absorbe una cantidad desproporcionada de este halógeno. En realidad, no sería una afinidad especial del tubérculo, sino más bien general del tejido necrosado (69); pero HIRSCH (70) y otros autores opinan que no hay base experimental suficiente para el empleo del yodo en la tuberculosis.

Ya de antiguo utilizado el arsénico, estaba justificado su ensayo, sobre todo si se tiene en cuenta la frase de EURLICH: "Lo que no cura el hierro lo cura el arsénico; lo que no cura el arsénico lo cura el fuego"; pero los ensayos fueron también desalentadores.

Entre las sustancias orgánicas no colorantes podemos citar la creosota, utilizada desde la antigüedad; el guayacol, el tiocol, el ácido cinámico y sus sales, la bilis y las sales biliares, las grasas, ácidos grasos y varios hidrocarburos, pero con resultados poco satisfactorios.

El aceite de hígado de bacalao se ha empleado desde hace muchísimo tiempo en el tratamiento de la tuberculosis. Después del descubrimiento de su riqueza en vitaminas A y D se pensó que actuaría por esta última movilizándolo y fijando el calcio, elemento que contribuiría a la calcificación del tubérculo, por lo que también se han empleado múltiples sales de este metal. Los resultados, sin embargo, han sido poco definitivos (71), no obstante la eficacia del calciferol en otra manifestación tuberculosa como el *lupus*.

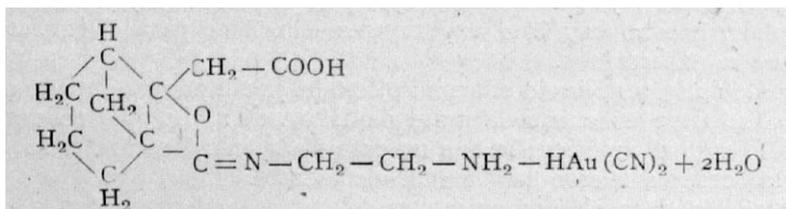
A pesar de las afirmaciones de los farmacólogos, como dice HART (72), es difícil negar algún influjo de la vitamina D sobre la tuberculosis por su acción sobre el metabolismo del calcio y del fósforo. Desde luego, aun los tratados médicos más modernos siguen aconsejando la terapéutica por el calcio en los enfermos tuberculosos.

El sulfato de cadmio produciría, según RAY y sus colaboradores (73), tan buenos resultados como la sanocrisina, siendo, sin embargo, más económico y no tóxico.

Pero entre los metales es, sin duda, el oro el más interesante, por los resultados obtenidos y por lo dilatado de su empleo. En este caso, su

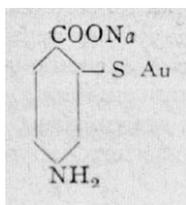
apogeo no constituye el siglo de oro de la metaloterapia antituberculosa, sino la década del oro, que comprendería desde 1925 a 1935. Como antes dijimos, ya KOCH, en 1890 (74), observó que el cianuro doble de oro y potasio tenía, una acción letal sobre el bacilo tuberculoso. Luego, sin embargo, se vió que, aunque una dilución 1:100.000 impide el crecimiento del bacilo en los cultivos, la presencia de suero sanguíneo en ellos hacia ya necesaria una concentración cuarenta veces mayor. El cloruro de oro se mostraba aún más activo también *in vitro* (1: 200.000), pero era ineficaz *in vivo*.

Los trabajos de SPIES y FELDT, de 1912 a 1916 (75), atrajeron la atención del mundo médico sobre la auroterapia. En efecto, estos autores vieron que el cianuro doble de oro y sodio era demasiado tóxico para ser empleado en medicina humana, y como la cantaridina había mostrado marcada afinidad para el tejido tuberculoso, concibieron la idea de reducir la toxicidad utilizando aquella como vehículo del cianuro de oro. Al parecer, por condensación con la etilendiamina redujeron su toxicidad sin alterar su afinidad por el tubérculo. Así, resultó el Auocantán:



mono-cantaridil-etilendiamino-aurosocianuro

Como este cuerpo resultaba muy tóxico, fué sustituido por el crisolgan (sal sódica del ácido paraaminoortoauromercaptobenzocarboxílico),



que fué introducido por FELDT (76), quien aseguraba que en la tuberculosis humana es un medicamento valioso, lo que ha sido negado por otros muchos autores.

En 1924, MOLLGAARD (77), de Copenhague, introdujo, con el nombre de Sanocrisina, el tiosulfato doble de oro y sodio, que había sido obtenido, a mediados del siglo pasado, por FORDOS y GELIS (78). La experimentación clínica la realizó SECHER (79).

Administrada por vía intravenosa, la sanocrisina producía en los tuberculosos fuertes reacciones, parecidas a las originadas por la tuberculina, por lo que se pensó que eran debida a las endotoxinas liberadas al destruirse el bacilo. Daba fuerza a esta suposición el ver que disminuía

sensiblemente el número de gérmenes de los esputos. Con objeto de combatir los fenómenos tóxicos, se preparó, incluso, un suero antitóxico, que se administraba antes que la sanocrisina. Hoy nadie emplea ya este suero, y los fenómenos de intolerancia (e incluso de muerte) al medicamento se disminuyen espaciando y aminorando las dosis inyectadas.

La literatura en contra y a favor de la sanocrisina es muy copiosa. Las autoridades sanitarias de diversos países se han mostrado muy cautas y prudentes, no pronunciándose a favor de la crisoterapia, que, en menor proporción que en la década señalada, continúa utilizándose en la actualidad. Según BURRELL (80), las principales indicaciones para la sanocrisina serían: a), disminuir la expectoración y la cantidad de bacilos en los esputos; b), evitar la diseminación aguda de la enfermedad; c), tratar a los pacientes que se les ve empeorar con otras medicaciones, y d), en combinación con el neumotórax, permitiría tratar lesiones bilaterales.

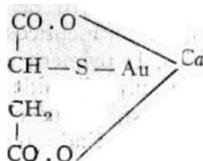
Todo esto, unido a que la mortalidad entre los enfermos tratados con sanocrisina parece ser menor que la de los no tratados, habla muy favorablemente de la auroterapia (81).

La opinión dominante actualmente en España puede deducirse de la lectura de dos libros manejados hoy por la mayor parte de la clase médica de nuestro país: BAÑUELOS y colaboradores (*Manual de Patología médica*, cuarta edición. Barcelona, 1943; capítulo escrito por GIRONÉS) y VELÁZQUEZ (LORENZO VELÁZQUEZ: *Formulario*. séptima edición. Madrid, 1947). Las dosis recomendadas por MÖLLGAARD, hasta de un gramo, deben ser reducidas, comenzándose por 0,01 gramo y llegando hasta 0,25 ó 0,30. La medicación debe hacerse con mucho cuidado, vigilando los fenómenos de intoxicación que pueden presentarse. Las dosis deben espaciarse de cinco a siete días, y antes de elevarlas se comprobará si existe albúmina y urobilina en la orina, cuya existencia obligaría a retrasar la inyección siguiente sin aumentar la dosis.

Los casos que responden mejor son los iniciales, las formas productivas con poca fiebre, y antes que se produzca reacción fibrosa. La asociación del oro a la colapsoterapia estaría muy indicada en las formas ulcerosas con tendencia hacia la tisis.

En España, un producto idéntico a la sanocrisina fué preparado; con el nombre de Orosanil, en el laboratorio de nuestro compañero doctor Abelló. La afirmación hecha por MÖLLGAARD de que el preparado fabricado por él es el más eficaz ha resultado ser inexacta (82).

No podríamos terminar de ocuparnos de la auroterapia sin citar medicamentos como el aurotiomalato cálcico:

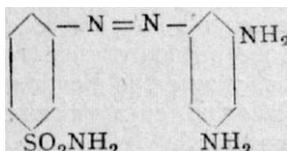


muy empleado en Francia; el solganal, muy parecido al crisolgan (4 aminometilénsulfonatosódico), el solganal B, que es la aurotioglucosa, y el trifal, que sería el aurotiobenzimidazolcarbonato sódico.

El lopión es la auroaliltiourea m benzoato sódico; la alocrisina es el aurotiopropanolsulfonato sódico, y la óleocrisina es el aurotioglicerín sulfonato cálcico (83). El solganal B oleoso, según SELIGSON (84), se tolera mejor que la sanocrisina; su índice terapéutico es de 1:50, mientras que para esta última es de 1: 4. Debemos decir, para terminar, que el oro no actúa sobre el bacilo tuberculoso de un modo directo, sino, en todo caso, estimulando las fuerzas defensivas del sistema retículoendotelial.

Sulfamidas y sulfonas.-Esta era la situación cuando, en 1932, publicaron WELLS y LONG (85) su obra sobre la química de la tuberculosis. En aquella fecha parecían cerrados todos los caminos que condujesen al logro de un medicamento verdaderamente eficaz. Sin embargo, sus autores hicieron la profecía de que acaso un nuevo éxito quimioterápico contra alguna infección bacteriana serviría de estímulo para un nuevo ataque del complejo y difícil problema del tratamiento medicamentoso de la enfermedad.

Este éxito no tardó en producirse al publicar DOMAGK (86), en 1935, el resultado de los trabajos que, desde hacía tres años, venía realizando para combatir las enfermedades producidas por el estreptococo hemolítico. El producto utilizado era un azoico rojo que recibió el nombre de prontosil:



Clorhidrato de sulfoamidocrisoidina ó 4- sulfamido-2-4-diaminoazobenceno.

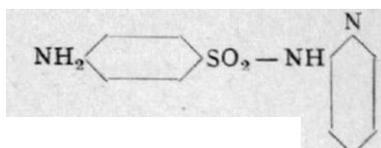
Pronto vieron los autores franceses, TREFOUEL, NITTI y BOVET (87), que la parte activa de la molécula era la portadora del grupo sulfamídico, y así se comenzó a utilizar en terapéutica la sulfanilamida:



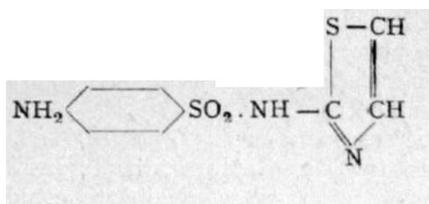
o paraaminobencenosulfonamida, a partir de la cual se prepararon luego millares de compuestos con fines terapéuticos.

Del grupo de las sulfamidas, la primera ensayada en la quimioterapia de la tuberculosis fué la propia sulfanilamida (RICH y FOLLIS (88)). Esta droga suprimía, pero no eliminaba, la infección en el conejo de Indias, y las dosis eficaces resultaban demasiado tóxicas para el animal. Otros

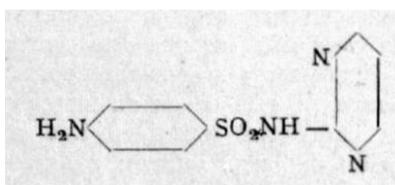
muchos investigadores siguieron esta misma ruta, y a más de la sulfanilamida se ensayó la sulfapiridina:



por FELDMAN y HINSHAW (89). Con resultados parecidos que no justificaban su ensayo en la tuberculosis humana, y lo mismo sucedió con el sulfatiazol:



y la sulfadiazina:

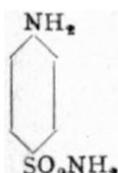


y con la sulfamerazina (un metilo en el grupo pirimidínico).

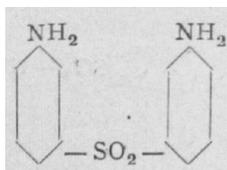
Lo más que se conseguía con ellas era retrasar, pero no impedir, el progreso de la enfermedad experimental.

Más recientemente, HOGGARTH y colaboradores (90) han ensayado la 2-sulfanilamido-4:6-dimetoxipirimidina, pero los resultados son también comparables a los de las otras sulfamidas, al igual que ha sucedido con los más variados cuerpos de este grupo estudiados por su actividad antituberculosa

Entre los cuerpos ensayados se encuentran las sulfonas, que son parientes muy próximos de las sulfamidas. En efecto, si en la sulfanilamida



sustituimos el grupo NH, sulfamídico por un radical, tendremos una sulfona; si es un aminobenceno en para tendremos, por ejemplo, la



4-4'diaminofenilsulfona. Como veis, tanto las sulfamidas como las sulfonas resultan derivados de ácidos arilsulfónicos, $Ar-SO_2OH$; en los primeros, el OH del grupo sulfónico está sustituido por una amina primaria o secundaria, en los segundos, por un núcleo bencénico o heterocíclico.

La 4,4' diaminofenilsulfona, sintetizada en 1908 (FROMM y WITTMAN (91), fué ensayada primeramente por RIST, BLOCH y HAMON (92) en cobayas y conejos infectados con *Mycobacterium tuberculosis*, var. aviar, con resultados alentadores.

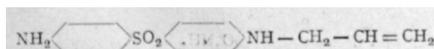
Este cuerpo fué ensayado, en 1937, por BUTTLE, STEPHENSO, SMITH, DEWING y FOSTER (93), y es prácticamente insoluble, pero demasiado tóxico, por lo que se iniciaron seguidamente estudios conducentes a un cuerpo más activo y menos tóxico. Seguidamente, SMITH, EMMART y WESTFALL (94), estudiando una serie de compuestos sulfurados y fosforados, llegaron a la conclusión de que este cuerpo es el más activo de todos los ensayados. FELDMAN y sus colaboradores (95) también pudieron comprobar la eficacia de esta droga en los cobayas, que no se mostró demasiado tóxica para estos animales. Las gráficas de mortalidad y de grado de infección de bazo, pulmón e hígado son muy brillantes comparadas con las de los animales testigos.

Se comprende la gran variedad de sulfonas que pueden obtenerse en el laboratorio. Si en un grupo amínico engarzamos un propilo, resulta la propilaminodifenilsulfona:



Este cuerpo, sintetizado por RAWLINS, fué ensayado por FELDMANN (96) y comprobada su actividad antituberculosa en el cobaya, pero con resultados no superiores al cuerpo matriz, es decir, a la 4,4' diaminofenilsulfona, y además, sus propiedades hemotóxicas no la hacen recomendable.

Reemplazando el propilo por el alilo tenemos otro cuerpo (4 alilamino 4' aminodifenilsulfona:



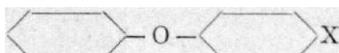
que tiene carácter antituberculoso, pero que no parece que tenga gran interés terapéutico.

En fin, toda una infinidad de sulfonas se van preparando ensayando con la finalidad de luchar contra la tuberculosis y lograr un medicamento de elevado índice quimioterápico. Siendo prácticamente imposible reseñar todos los intentos hechos dentro del grupo de las sulfonas, creo mejor indicar que los estudiosos que tengan interés en estos trabajos pueden consultar los que citamos al pie de esta página¹, limitándonos nos-

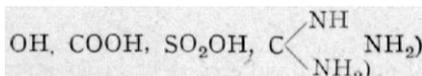
*Derivados de la diaminodifenilsulfona.- SMITH, McCLOSKEY y JACKSON (117) estudian la sal sódica de la 4-amino-4' galacturonil aminodifenil sulfona (galacturónido), la 4 amino -4'-uneido difenil sulfona (carbamil) y la 4 amino 4' n- propil aminodifenil sulfona (n-propil), comparándolas con la promina. BAMBAS (118) estudia un crecido número de derivados especialmente heterocíclicos.

COLORADO, IRIS, LEYVA Y RAMÍREZ (119) han preparado diversos derivados yodados de la diaminodifenil sulfona. FREEDLANDER y FRENCH (120) estudian en el cobaya algunos derivados de la aminodifenil sulfona, juntamente con cuerpos relacionados como sulfóxidos y sulfuros.

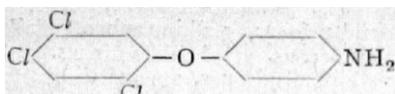
BARRY O'ROURQUE y TWOMEY (121) ensayaron *in vitro* diversos compuesto de la serie



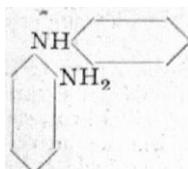
(estando X en esta posición *para* o en *orto* y perteneciendo una serie de grupos solubilizantes como



que todos mostráronse activos, pero muchos menos los derivados *orto*. Cuando introducen las funciones en *para*, en los dos núcleos, la actividad disminuye enormemente. La introducción del cloro, sobre todo dos átomos en *para* y *orto* del primer núcleo, aumenta la actividad, que llega al máximo en



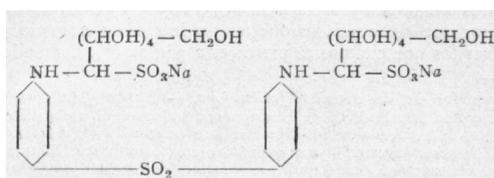
Más recientemente, Barry y sus colaboradores (122) encuentran entre los productos de oxidación *orto* fenilendiaminas con cloruro férrico, un pigmento a partir de



que inhibe los cultivos tuberculosos en diluciones de 20 millones y, en presencia de suero sanguíneo, de 3 millones. FEISTONE, FRIEDMAN, ROTHLAND, KELLY y WILLIAMS (123) estudian *in vitro* toda una serie de derivados de la 2 butoxi-5-amino-

otros a indicar las sulfonas consideradas hoy como más interesantes. Son éstas: la promina, el diasone, el promizol y la sulfetrona.

Promina.-Este es el nombre comercial de la 4,4' diaminodifenil sulfona 1,1' didextrosa sulfonato sódico:



piridina. GRAEF, FREDERICKSEN Y BURGUER (124) han sintetizado gran número de compuestos heterocíclicos de tipo ácido, con la esperanza de obtener productos antituberculosos.

WILLSTAEDT y BORGGARD (125) han sintetizado compuestos azoicos conteniendo grupos metilquinólicos, algunos de los cuales tienen propiedades antituberculosas. WILLSTAEDT (126) estudia *in vitro* varios azoicos derivados de 2 metil I naftalinamina y 2 metil I naftol. MAYER (127) ensayó varios cuerpos *in vitro*, de los que el más activo fué el mercaptobenzotiazol.

BARGER, WILSON, BRINDLEY y BERHEIM (128) estudian una serie de derivados halogenados. En el cobaya, los compuestos más interesantes parecen los éteres conteniendo 3-(2 metilpiperidin) NH₂.

FEINSTONE (129) ha estudiado varios cientos de derivados de la 5-amino-2-butoxipiridina, de los que el más interesante es el derivado sodioformaldehidobisulfítico, que inhibe *in vitro* los cultivos de bacilos virulentos en diluciones de 1:100.000.000.

HOGGART Y MARTIN (130) obtienen varias series de compuestos sulfonados, suprimiendo en muchos el grupo amínico. Las series estudiadas están formadas por derivados de los siguientes grupos: m.amino-p.tolialalkilsulfonas, fenilsulfonas, p.tolisulfoninas, difenilsulfonas, alfa y beta naftisulfonas, dicioalkilsulfonas cíclicas y fenilalkilsulfonas, p.n.butilfenilalkilsulfonas, alfa y beta alkilsulfonas, dialkilsulfonas, p.aminofenilsulfonas, p.alkilm.aminofenilalkilsulfonas, p.beta dietilamino etilamino-fenilalkilsulfonas, arisil alkilsulfonas, p.alcoxifenilsulfonas, hidroxifenilsulfonas, dimetoxialkilsulfonas, aminodifenilsulfonas, heteroarilfenilsulfonas, fenilalkilsulfonatos, fenilsulfanilatos, p.aminonefilbenzenosulfonatos, n.alkilbenzenosulfonamidas y cuerpos variados difenilbenzenosulfónicos. Estos mismos autores (131) han ensayado diversos antimaláricos, de los que los de la serie 2-arilamino-4-diakilaminoalkil-6-metilpirimidinas parecen ser los más interesantes, por lo que en otra publicación HOOGARTH, MARTIN, PAIGE, SCOT y YOUNG (132) estudian más de cien cuerpos de este tipo.

Productos naturales.- Ácido úsmico (STOLL, BRAGK y RENZ) (133). La constitución de este ácido ha sido determinada por CURD y ROBERSTON (134). EMMART (135) estudia la actividad de compuestos alilcíclicos, de los que el ácido 3-n-amilciclopenteanocarboxílico se mostró particularmente interesante, así como sus derivados.

En Japón se ha ensayado el alcaloide cereantina (de la *Menispermácea Stephania cepherantha*), que es activo *in vitro* contra el *Mycobacterium tuberculosis*; tiene poca toxicidad y produce detención, y a veces resolución de las lesiones tuberculosas experimentales, habiéndose observado también mejorías clínicas con pequeñas dosis de cefarantina.

Como se ve es un derivado de la diamonodifenilsulfona, en la que la introducción de re radicales de glucosa y sulfónicaos (sal sódica) aumenta la solubilidad y, posiblemente, disminuye sus toxicidad y actividad terapéutica.

Los trabajos relativos a la fase experimental *in vitro* y en animales son numerosos (FELDMAN y colaboradores (97), SMITH y colaboradores (98), STEEKEN y colaboradores (99), COLLOMON (100) MEDLER y SASANO (101), AMSTROMNG y colaboradores (102), TYLER (103), DUCA (104).

He aquí un ejemplo de la experimentación de FELDMAN: 80 cobayas se inoculan por vía subcutánea con 0,0005 mg. De bacilo tuberculoso de la cepa H 37 Rv.; 12 animales no fueron tratados y 48 fueron divididos en seis grupos de ocho animales. De este modo pudo verse el efecto de la medicación, iniciándola en cada uno de estos grupo: el día de la infección, a los tres días, a la semana, a las dos, a las cuatro y a las seis semanas. A los 20 conejillos restantes la medicación se inició dos días antes de la inoculación tuberculosas. En todos los caso la promina se administró con el alimento en la proporción del 1 por 100 de peso. Al cabo de seis meses los resultados fueron los siguientes: todos los conejillos no tratados habían muerto. De los 68 que recibieron promina, sólo 11, es decir, el 16 por 100, había muerto también, y 57, o sea, el 84 por 100, vivían. En todos ellos se apreciaba el efecto beneficioso de la droga. En 37 (57 por 100) no había lesiones demostrables en hígado, bazo ni en el pulmón. En un 43 por 100 no sólo en estos órganos, sino también en el sitio de la inoculación y en los ganglios linfáticos vecinos había ausencia total de lesiones tuberculosas. Finalmente, aquellos animales que mostraban lesiones tuberculosas, éstas se encontraban en fase estática o regresiva. Se comprende la importancia de lograr un medicamento capaz de curar incluso a las seis semanas de iniciada una enfermedad de tan corta duración en el cobaya (generalmente, unas treinta semanas).

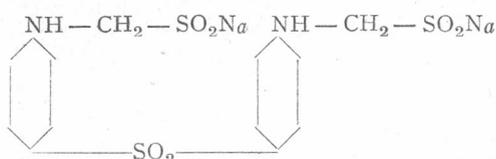
Posteriormente, en otras series de animales a los que se les inoculó el *Mycobacterium var. hominis* H37 Rv., se vió que a los cuarenta y dos días daban positiva reacción a la tuberculina. Entonces, a una parte de los animales se les trató con promina y los otros quedaron sin tratamiento como testigos. Una semana más tarde, a todos los animales se les hizo una biopsia de hígado. Al cabo de doscientos veinticuatro días, cuando ya habían muerto todos los animales que no recibieron promina, se sacrificaron los supervivientes (de los que recibieron el medicamento sólo había muerto el 19 por 100). El examen pos morten mostró las diferencias antes anotadas en los diversos órganos.

La resonancia de estos hallazgos trascendió al gran público. Los *magazines* americanos se ocuparon de este medicamento, del que no dijeron más que aquello que era más sensacionalista, por lo que fué necesaria la publicación de un sereno informe de la American Trudeau Society (105), frenando exagerados y prematuros optimismos.

Aunque en términos generales la promina es bien tolerada por los cobayas, pronto se vió que tiene tendencia a producir anemia hemolítica, lo

que representa un serio obstáculo que, sin embargo, desaparece al suspender la medicación. Por esto se hicieron nuevos ensayos, en los que la medicación se hizo una semana sí y otra no. Los resultados fueron buenos, aunque no tan brillantes, pero indicaban la posibilidad de suspender el tratamiento en las personas tuberculosas el día en que se viese que la promina era mal tolerada. Pero sin embargo, habría que reanudarla después, toda vez que se ha podido comprobar que la sulfona no es capaz de desterrar los bacilos virulentos. Por consiguiente, cuando, la medicación se suspende, la infección se reaviva y los animales mueren tuberculosos, lo que obliga a no poder suspender la medicación, que, por otra parte, no actúa elevando el mecanismo inmunizador. Sucede además que, en ocasiones, hay animales que no responden a la promina.

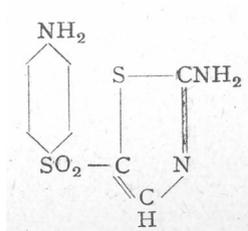
Diasone.- Es el disodio formaldehido sulfoxilato de diaminodifenil-sulfona:



La entrada de la rongalita en la molécula de la diaminodifenilsulfona disminuye su toxicidad, pero también su eficacia.

Este cuerpo (COLLOMON (106), FELDMAN, HINSHAW y MORES (107), GIROUX (108), COLLOMON, KOLMER; RULEX y PAUL (109), ROUSSEAU, GIRONNE y RICHARD (110); RAIZIS (111) produce análogos efectos que la promina. Las lesiones tuberculosas mostraron una marcada tendencia hacia la curación, no sólo por disminuir su progresión, sino también por el hecho de que las células epitelioides son sustituidas por tejido conectivo fibroso.

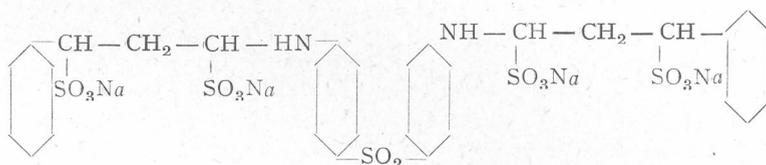
Promizol.-Es el 4,2' diaminofenil 5' tiazolilsulfona:



cuya relación con el sulfatiazol :

es bien evidente, Este cuerpo fué sintetizado por primera vez por BAM-BAS (112). Como se ve, no es una diaminodifenilsulfona; pero en la experimentación con conejillos de indias (FELDMAN, HINSHAW y MANN (113) se mostró igualmente interesante que los cuerpos anteriores, sobre los que tendría la ventaja de una menor toxicidad para el hombre. Por lo demás se comporta igual que las otras sulfonas a las que hemos hecho referencia anteriormente, tanto en su poder antituberculoso, como en no curar la enfermedad, toda vez que la suspensión del medicamento se acompaña de una agravación y, finalmente, de la muerte del animal.

Sulfetrona.-4A'-bis (gamma fenil-n-propilamino) difenilsulfona sulfonato tetrasódico:



Fuó sintetizada por GRAY y HENRY (114) en 1936, pero sin embargo, las publicaciones extensas relativas a su farmacología y a su estudio quimioterápico en animales son del año 1948 (BROWNLEE, GREEN y WOODBINE (115); BROWNLEE y KENNEDY (116), y demuestran que se trata de un medicamento comparable por sus efectos a las sulfonas anteriores, tanto por su acción supresiva de la enfermedad, como por la acción curativa de las lesiones, como, en fin, porque cuando se suspende la medicación, la enfermedad recupera de nuevo su morbilidad.

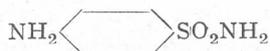
Llegados a este punto debemos preguntarnos cómo actúan las sulfonas. Los derivados de la diaminodifenilsulfona se piensa hoy que lo harían transformándose en esta sustancia que sería la realmente activa. Pero en todo caso, volvemos a hacernos la pregunta de cómo actúa esta última, y no podemos responderla más que por analogía con las sulfamidas, lo que es lícito pensar desde el momento en que las sulfonas actúan sobre otras bacterias, y las sulfamidas, aunque no en grado muy grande, lo hacen, a su vez, sobre los bacilos ácidosresistentes. Unas y otras actúan impidiendo

do la división celular, y esta falta de multiplicación del germen le hace vulnerable a las defensas del organismo infectado, que de este modo puede vencer la enfermedad. En 1940 observó WOODS (1936) que el ácido para aminobenzoico antagoniza la acción bacteriostática de las sulfamidas sobre los estreptococos, bastando la presencia de este ácido en los cultivos para que el microorganismo se reproduzca y crezca como si tal sulfanilamida no estuviera presente. Se trata de una reacción cuantitativa (una parte de ácido p. aminobenzoico neutraliza la acción de 1.600 partes de sulfanilamida). La sulfanilamida impide la utilización del ácido, que es un metabolito esencial, por una competencia inhibitoria. Esta explicación de FILDERS (137) tiene la mayor trascendencia y abre nuevos caminos a la quimioterapia.

Los procesos de crecimiento de los microorganismos son de orden sintético, y, probablemente, los más interesantes son los de la síntesis de las proteínas. La síntesis de cada compuesto es un proceso escalonado y cada escalón es el resultado de un proceso enzimático. Si estos enzimas son inhibidos, o se pierden, el anabolismo del organismo se interrumpe y se detiene su crecimiento. Si se pierde esta capacidad enzimática la enzima y los cofermentos que faltan constituyen para el germen factores de crecimiento o metabolitos esenciales. Igual efecto producirá sobre un germen la ausencia de este metabolito que la existencia de algún factor que impida su utilización.

Esta competición por el substrato, a la que aludíamos antes, se ve perfectamente en cuerpos de constitución parecida. En el caso, por ejemplo, de la succinil de-hidrogenasa, si el ácido succínico se reemplaza por el malónico, éste entra en el sistema enzimático por su parentesco químico y forma un complejo que, en contra de lo que sucede con el del succínico, es incapaz, por su mayor estabilidad, de pasar por las fases de deshidrogenación y disociación. Esta inhibición del malonato es reversible, y si se agrega más succinato éste reemplaza al sistema por desplazamiento del malonato perturbador.

Es decir, que es un proceso análogo al que se establece cuando el germen admite la sulfanilamida,



por su parentesco químico con el ácido p. aminobenzoico,



El germen se ve privado de este factor de crecimiento, de este metabolito esencial. No se conocen bien los receptores químicos que intervienen en esta competición. Probablemente, también las sulfamidas forman complejos enzimáticos demasiado estables y, por ende, sin la labi-

lidad necesaria. Se cree hoy que el compuesto que forma este cuerpo es la reductona, y de hecho se ha demostrado la existencia de complejos reductona-ácido p. aminobenzoico y reductona-sulfonamida. Las sulfonamidas serían, por tanto, activas frente a una gran variedad de gérmenes para los que el ácido p. aminobenzoico es un factor de crecimiento.

Esto abre un nuevo camino en la quimioterapia (138), por lo que vemos que la Bioquímica es la mejor colaboradora de la Farmacodinamia. Los trabajos de WOODS y, sobre todo, la concepción de FILDES, nos permiten una orientación nueva de grandes posibilidades buscando cuerpos de constitución parecida a la de los metabolitos esenciales del germen que se desea combatir. De este modo se han sintetizado ya cientos de compuestos. Muchos se han mostrado activos *in vitro* y no *in vivo*, y otros han resultado demasiado tóxicos para el animal infectado. Hasta ahora ciertos análogos de un metabolito esencial, como el ácido pantoténico, han sido utilizados; tal sucede con la fenilpantotenona.

Puede ocurrir que el metabolito no solamente sea esencial para el microorganismo, sino también para el mamífero que sufre la enfermedad (véase a este respecto la obra de LIBERMANN¹ (139), en cuyo caso el agente bacteriostático empleado puede resultar perjudicial para este último, como sucede, por ejemplo, con los cuerpos análogos a las vitaminas del complejo B (aneurina, ácido fólico y ácido nicotínico), que han producido los síndromes avitaminósicos correspondientes.

La relación entre la sustancia quimioterápica que se busca y el metabolito esencial debe analizarse y estudiarse bien, no sólo para comprender el modo de acción del posible medicamento, sino también para pensar de un modo más lógico en la índole química del cuerpo buscado. Para esto es preciso tener presentes tres puntos fundamentales: 1.º Hay que demostrar la existencia del antagonismo entre el metabolito esencial y su análogo; 2.º Aunque se haya establecido este antagonismo no se debe pensar que la inhibición solamente se debe al cuerpo estudiado, debiendo ensayarse éste frente a diversos gérmenes que pueden tener un mismo metabolito esencial, y también debe investigarse su efecto sobre los cuerpos que, naturalmente, podrían reemplazar al factor de crecimiento estudiado. La acción del análogo debe ser la misma que resulta cuando el germen se ve privado del metabolito; y 3.º También conviene investigar el

¹ LIBERMANN (139) sostiene que no existen metabolitos esenciales para las bacterias que no lo sean al mismo tiempo para el hombre y los animales superiores, y, por tanto, si las sulfamidas actuasen, según la teoría de WOODS y FILDES, bloqueando algún metabolito esencial, deberían producir, de un modo directo, síndromes carenciales que nunca se han observado con su empleo. Según la teoría de este autor, las sulfonamidas actúan sobre el metabolismo del agua oxigenada, impidiendo su utilización por las bacterias que la necesitan para su multiplicación. Su acción se ejercería bloqueando la peroxidasa y formando con el agua oxigenada una combinación irreversible. Para algunas bacterias la peroxidasa o su coenzima, la hematina, serían verdaderos factores de crecimiento. En cambio, otras, como el bacilo de Koch, elaboran su propia hematina, por lo que las sulfamidas carecerían de acción sobre ellas.

punto exacto de ataque de la sustancia inhibidora, lo que resulta difícil, dada la complejidad de los procesos. Especialmente difícil resulta el discriminar si la acción se ejerce sobre la asimilación o sobre el metabolismo del metabolito esencial. Lo mejor estudiado hasta el presente es el anabolismo que conduce a la elaboración del factor de crecimiento, como por ejemplo, la conversión del ácido p. aminobenzoico en ácido fólico y su inhibición por las sulfamidas; igualmente se ha estudiado cómo la transformación del ácido glutámico en glutamina es inhibida por el sulfóxido de la metionina. En este ejemplo también se ha encontrado un análogo que ejerce su acción sobre las funciones del factor de crecimiento ya formado. En efecto: la hidrazida del ácido glutámico inhibe el desdoblamiento de la glutamina en ácido glutámico y amoníaco, lo que podría explicar la inhibición del crecimiento de los estreptococos por la hidrazida.

Lo que antes hemos indicado respecto a los análogos del grupo de las vitaminas del complejo B tiene una gran trascendencia, pues es necesario encontrar análogos a metabolitos esenciales para el germen patógeno, pero no para la economía del hombre o animal infectado; precisamente ésta ha sido la suerte que hubo con el hallazgo de las sulfamidas; éstas, como hemos dicho, actúan impidiendo en las bacterias la síntesis del ácido fólico. Afortunadamente, podemos decir en este caso, el hombre no es capaz de sintetizar dicho ácido, que lo toma ya formado en la Naturaleza, o que lo sintetiza en el intestino la flora allí existente, y precisamente los síntomas de intolerancia sulfamídica tal vez se deban atribuir, en parte, a la acción de las sulfamidas sobre esta flora. Además, coincide la feliz circunstancia de que en el hombre el ácido fólico no se encuentra como tal, sino en formas conjugadas no aprovechables por los microbios patógenos. Esta relación con el ácido fólico ha sido perfectamente demostrada, pero es también lógico presumir que las sulfonamidas pueden interferir, por su analogía con el ácido p. aminobenzoico, sobre la síntesis de las purinas, timina, metiotina, lisina, serina y, posiblemente, de la valina.

Acido para ominosalicílico (P. A. S.).- Estos nuevos conceptos sirvieron a LEHMAN (140) para iniciar una nueva quimioterapia antituberculosa. El metabolismo intermedio del bacilo de Koch había sido estudiado por DIECKMANN y MOHR (141); LOEBEL, SHORR y RICHARDSON (142); NAKAMURA (143), y BERHEIM (144), determinando por el método de Warburg el consumo de oxígeno de los bacilos en presencia de diversos substratos. Este último autor hizo la interesante observación de que los benzoatos y los salicilatos aumentaban considerablemente el consumo de oxígeno, lo que indica que sustancias químicas de este tipo pueden desempeñar un importante papel en el metabolismo celular del *Mycobacterium tuberculosis*. LEHMAN pudo comprobar este fenómeno utilizando bacilos virulentos. En presencia de salicilato sódico el consumo de oxígeno aumentó de un 72 a un 157 por 100 en los microbios virulentos; en cam-

bio, en los cultivos viejos y en el B. C. G. no se observó aumento alguno en el consumo de oxígeno.

Decía LEHMAN: "No se puede precisar aún si los benzoatos y salicilatos actúan como catalizadores o como meta bolitas esenciales." Posteriormente, LEHMAN (145) cree que el P. A. S. actúa interfiriendo la desaminación de los aminoácidos. YOUMANS (146) considera que la interferencia se produce en el sistema enzimático de los bacilos. Pero sobre el huésped produce también acciones interesantes, toda vez que contribuye a transformar el tejido necrótico exudativo en fibrótico proliferativo y que a los enfermos conviene administrarles conjuntamente vitaminas del grupo B, de las que parece que hay cierta depleción. Todos estos datos obligan a pensar que la acción del ácido para aminosalicílico es bastante compleja.

Los ensayos *in vitro* son satisfactorios incluso en presencia de suero sanguíneo. En los animales, YOUMANS (147), empleando ratones, observó que en los *controles* tuberculosos sin tratar, al cabo de veintiocho días habla muerto el 85 por 100, y en los que recibieron P. A. S., sólo el 5 por 100, y las lesiones tuberculosas de estos últimos tenían una intensidad cuatro veces menor que las de los testigos. FELDMAN, KARLSON (148) e HINSHAW obtienen también buenos resultados en la tuberculosis del conejo de indias. En cambio, los hallazgos de MAC CLOSKY, SMITH Y FRÍAS en el mismo animal no son favorables.

La toxicidad del P. A. S. parece ser muy pequeña, según los diversos trabajos publicados, y su farmacología ha sido bien estudiada. Es activo por vía oral, se elimina en parte acetilado y en parte sin transformar, y en ningún caso como glucurónido ni como sulfato (BRAY, RYMAN y THORPE (150), en un tiempo que oscila entre diez y veinticuatro horas, habiéndose estudiado la manera de determinarlo en sangre, en orina y líquido cefalorraquídeo (KLYNE y NEWHOUSE (151); WAY, SMITH, HOWIE, WEISS y SWANSON (152). En consecuencia, en clínica, precisa administrarlo con cortos intervalos (cada cuatro horas).

Nos encontramos, por tanto, ante un interesante medicamento, con efectos más rápidos que cualquier otro fármaco (DEMPEY y LOGG (153)), y en opinión de ERDER (154), en el principio de una respuesta al problema de la tuberculosis, agregando este autor: " ... pero nuevos y más prometedores compuestos están produciéndose ya en los laboratorios."

LEHMAN ensayó más de cincuenta compuestos de este tipo y de todos los estudiados, que no voy a detallar en este lugar, el más interesante fué el P. A. S. OBERWEGER, SEYMOUR y SIMMONITE, en la Conferencia farmacéutica celebrada en Brighton hace dos meses, también indican que el cuerpo más activo es el ácido para aminosalicílico. Es curioso que, al intentar preparar este cuerpo, todos los químicos consultan el *Beilstein* (155), especie de biblia de la química orgánica, y se encuentran con la referencia de que se obtiene siguiendo el método de Seidel y Bitner (156) por reducción del ácido para-nitrobenzoico, mediante el ácido, el *Sn, Zn* y *CLH* o *Sn Cl₂*; pero en realidad, lo que se obtiene en este caso es el

metaaninofenol. Debemos decir antes de terminar que, como en el caso de las sulfonas, el P. A. S. es bacteriostático, y que suspendiendo la medicación en el animal de experimentación, la tuberculosis continúa su progreso hasta la muerte.

ANTIBIOTICOS

Y después de tratar de la quimioterapia de la tuberculosis, anterior y posterior al descubrimiento de las sulfamidas, y siguiendo. un orden histórico, nos ocuparemos ahora de otro grupo de medicamentos del máximo interés terapéutico. Nos referimos al de los antibióticos, así llamadas por WAKSMAN (157) a las sustancias químicas de origen microbiano capaces de inhibir el crecimiento o el metabolismo de las bacterias u otros microorganismos. La palabra *antibiote* fué usada por VUILLEMIN (158) para designar al animal que hiere, que envenena, que vive libre, pero destruyendo la vida de otros seres. En 1887 PASTEUR y JAUBERT (159) presentaron una Memoria a la Academia de Ciencias de París sobre la septicemia y el carbunco en la que mostraban el antagonismo microbiano en los cultivos y escribieron: "Estos hechos quizá justifiquen las más grandes esperanzas para la terapéutica."

Sin embargo, así como en quimioterapia puede hablarse de dos figuras que marcan una época, como son EHRLICH primero y DOMAGK después, en antibióticos es FLEMING quien marca una época. Como indica BURN (160), el largo tiempo transcurrido entre el descubrimiento de la penicilina en 1929 y su empleo terapéutico en 1941, se debió en gran parte a la idea, que prevalecía aún a principios de la década de 1930, de que "un agente antibacteriano para uso humano era un imposible".

La extracción de la tirotricina por DUBOS (161) y, en fin, los trabajos de los investigadores británicos sobre la penicilina, que son de todos conocidos (véase JÁUREGUI (162) y BUSTINZA (163), han hecho posible y práctica la producción de antibióticos para combatir la tuberculosis. En cuanto se refiere al tratamiento de esta enfermedad, como indica FLOREY (164), el primer ensayo en este sentido fué hecho por FEHLEISEN (165), quien en 1883 intentó el tratamiento del *lupus* transmitiendo al enfermo la erisipela, por suponer que esta infección ejercería un beneficioso influjo sobre una enfermedad crónica de la piel.

Dos años después, CANTANI (166) combatía la tuberculosis pulmonar por insuflación de cultivos en gelatina de un microorganismo (*Bacterium termo*), que él suponía antagonista del de Koch. Gran interés tiene el trabajo de KLEIN (167), quien partiendo de la acción observada por BOUCHARD (168) contra el *Bacillus anthracis* de los cultivos esterilizados de *Pseudomonas pyocyanea*, empleó éstos para suprimir la tuberculosis producida previamente en el cobaya.

A pesar del gran interés de este trabajo, no parece que tuvo gran repercusión. En 1942, RAPPIN (169) vió que algunos bacilos identificados

como el *subtilis* (*B. mesentericus* y *B. megatherium*) y sus extractos producían un efecto antagonista *in vitro* contra el *B. tuberculogeno in vitro e in vivo*. Aún más interesantes y más completos son los trabajos de VAUDREMER (170), quien comprobó que los extractos del moho *Aspergillus fumigatus* parecían digerir al bacilo tuberculoso, llegando incluso a tratar doscientos pacientes, en algunos de los cuales consiguió inesperadas curaciones, y en otros mejorías temporales. Otros ensayos se hicieron después, *in vitro*, por KIMMELSTIEL (171) con el *Bacillus mycoides*; por SCHILLER (172) y por VAN CANNEYT (173), *in vitro e in vivo*, con *Bacillus subtilis*, y, en fin, por MACHADO (174), que a partir de un moho no identificado lograba privar al bacilo de su ácidorresistencia.

Todos estos experimentos no pueden ser más interesantes, y era lógico que hubieran conducido al descubrimiento de verdaderos antibióticos puros con aplicación en la clínica de la tuberculosis; pero en este caso, como en otros muchos de la historia de la ciencia, el ambiente no estaba maduro para que se produjera "el cambio" en el sentido que sostienen los ORIOL ANGUERA en su *Historia de la tuberculosis*, Sería necesario que algún hecho nuevo viniera a destruir un concepto bien arraigado en la mente de los hombres de ciencia en 1930, Y este hecho nuevo fué el descubrimiento de DOMAGK que antes hemos comentado.

ZORZOLI (175), en 1940, reduce la virulencia del bacilo tuberculoso para el cobaya sometiendo a la acción de extractos de *Aspergillus* y de monilías los cultivos del *Mycobacterium* antes de inocularlos al cobaya. La estreptomycinina fué aislada por WAKSMAN y WOODRUFF (176), y este último autor, en colaboración con FOSTER (177), vió que el bacilo de Koch era muy sensible a la estreptomycinina; pero FELDMAN y HINSHAW (178) no pudieron comprobar su actividad en el cavia. Para una historia más completa de los antecedentes históricos de los antibióticos antituberculosos, véase WAKSMAN (180)¹.

¹ Entre otros trabajos relacionados con la producción de antibióticos, citaremos los siguientes:

En 1943, BOWSER (181) obtiene una lipasa activa contra el B. de Koch a partir del *achromobacter lipolyticum*. En 1944, FONTES, MAGARAS, ARRAIGADA y THALES (182) obtuvieron la subtilina de las bacterias del aire (23 tipos, uno de los cuales era el *bacillus subtilis*). También los americanos LANSSEN y HIRSCHMANN (183) y SALLE y JANN (184) publicaron sus trabajos sobre a subtilina, y HIRSCHARN, BUCCA y THAYER (185), sobre la subtenolina, MILLER y REKATE (186) emplean filtrados de diversos cultivos de hongos, y BERBER y GROSS (187), de otros, llamando al producto micocidina. SOLTYS (188) y ASHESHOV y STRETLITZ (189) estudian los *aspergillus*, eh especial el *fumigatus*, y HOGEBON y CRAIG (190), BUSCH, DICKINSON, WARD y AVERY (191) y KURUNG (192), la ustina del *aspergillus ustus*. *In vitro*, la misma penicilina se puede mostrar antituberculosa en determinadas concentraciones (ILAND) (193). Del *fusarium solanis* y *pseudosnonas aeruginosa*, CARR (194) y BOISSEVAIN (195) obtienen productos antituberculosos. Especialmente activa se mostró la javanicina del *fusarium giovanicum* (197). Entre los hongos superiores, los productos más interesantes son la clitocibina de la *clitocybe candida* y la *C. gigantea* (HOLLANDE) (197) y la nebularina de la *clitocybe nebularis* (EHREMBERG, HEDSTRÖM, LÓFGREM y TAKKMAN (198).

Estreptomycin.-En enero de 1944, SCHATZ, BURGIE y WAKSMAN (219) publicaron el importante descubrimiento de la estreptomycin. Este descubrimiento no fué producto de la casualidad¹, sino el resultado de una serie bien orientada de investigaciones realizadas por una autoridad mundial en materia de *Actinomyces* y encaminadas a conseguir un hongo cuyos productos fuesen capaces de luchar victoriosamente con las bacterias Gram negativas y contra los *Mycobacteria* Gram positivos. Como este moho es el *Streptomyces griseus*, le dieron el nombre de estreptomycin. Algunas cepas del mismo no producen el antibiótico. El espectro antibiótico de la estreptomycin es muy extenso, pero nosotros nos vamos a limitar, como es natural, a su efecto sobre el bacilo de Koch.

Su actividad sobre este microbio fué primeramente observada por SCHATZ y WAKSMAN (220) al estudiar la acción de este antibiótico sobre una serie de gérmenes, haciendo notar no sólo su propiedad bacteriostática sino también la bactericida frente a bacilos humanos de gran virulencia, si bien para la primera bastarían de 0,095 a 0,78 microgramos por centímetro cúbico, en tanto que para llegar a producir una acción bactericida se requieren 50 microgramos por centímetro cúbico (YOUmans (221).

El bacilo de procedencia bovina. es igualmente sensible que el humano, y el aviar es mucho más resistente a la estreptomycin.

FELDMAN y sus colaboradores (222, 223) hicieron sus primeros experimentos con tan sólo cuatro cobayas, por disponer de cantidades muy reducidas del fármaco. Estos autores siguieron la misma pauta que para sus investigaciones sobre las sulfonas, a las que nos hemos referido antes.

La lactaroviolina es un pigmento aislado del *lactarius deliciosus* (199). Del *bacillus lincheniformis*, cultivado en medios artificiales, producen CALLOW y O'HART (200) la liqueniformina, una sustancia activa. JOHNSON (201) prepara la cumicina y FOSTER y WOODRUFF (202) la bacilina a partir de gérmenes de la tierra enriquecida con bacilos tuberculosos. Del *pseudomonas aeruginosa*, HUGHES y KIERMAN (203) y BERGSTROM, THEORELL y DAVIDE (204) obtienen productos activos (uno de ellos, el ácido piolípico). La actinomicina se obtiene del *streptomyces antibioticus* (SCHATZ y WAKSMAN (205); la proactinomicina, del *Pr. gardneri* (FLOREY, JENNINGS y SANDERS (206), y la litmocidina, del *Pro cyaneu* (GAUSE (207). BRAZHNIKOVA (208) y DUJARDIN BAUMETZ (209), a partir del *micrococcus antibioticus*, y MATTICK y HIRSCH (210), de cocos de la leche, obtienen la nisina, y EMMART (211), la nocardina de la *nocardia cæliaca*. De un *actinomyces* identificado y parecido al *A. lavandulæ* obtienen KELNER y MARTIN (212) una sustancia activa contra el *Mycobacterium tuberculosis* en grandes concentraciones, y más específicamente contra el *M. smegmatis*.

EHRlich, BARTZ, SMITH, JOSLYN y BURKHOLDER (213), a partir de ciertos *streptomices*, preparan la cloromicetina, que frente al *M. tuberculosis* se muestra menos activa que el ácido para-amino-salicílico o la estreptomycin en el ratón (YOUmans, YOUmans y OSBORNE (214).

Entre las plantas superiores, del ajo se ha preparado un producto activo (COURMONT, MOREL, PERROT, DENARD y SALAVILLE (215); RAO, RAO, NATAJARAN y VENKATARAMAN (216); el p'umbagal, de la *Plumbago europea* (SAINT RAT, OLIVIER y CHOUTEAUR (217), y la diploicina del líquen *Buellia comescens* (BARRY (218).

¹ Sobre la casualidad y la investigación científica, véase la interesante conferencia de sir HENRY DALE, ante la Asociación Médica Británica, el 2 de julio de 1948, en Cambridge (Brit. Med J., II, 451; 1948) (179).

Utilizaron la cepa H 37 Rv. (inyección subcutánea de 0,1 mg.), A dos cobayas se les inició el tratamiento el mismo día, y a otros dos a las dos semanas (la estreptomycinina se administró cada tres horas, de nueve de la mañana a nueve de la noche). Al cabo de cincuenta y cuatro días se dió por terminada la experiencia, por no disponer de más estreptomycinina. La necropsia de los animales tratados y de los testigos fué tan impresionante que FELDMAN tomó el tren y fué a New Brunswick a visitar a WAKSMAN. Juntos se trasladaron a los laboratorios de la casa Merck, y con los hombres de ciencia de esta fábrica establecieron una interesante colaboración que permitió un activo estudio de esta nueva droga.

De las experiencias sucesivas hechas por la escuela de FELDMAN en el laboratorio de la Clínica de los Mayo, en Rochester (Minn), se deduce que mientras los cobayas no tratados muestran lesiones muy graves y extensas, que en un buen número de casos les producen la muerte antes del final de la experiencia, los animales sometidos a la estreptomycinina no presentan signos de tuberculosis o éstos son mínimos. En general, la dosis empleada fué 0,1 mg. de B. de Koch. En una segunda experiencia, el período de tratamiento fué mayor (sesenta y un días) y los resultados fueron comparables, lo mismo en los animales en que se inició el día de la inoculación que en los que se comenzaron a tratar dos semanas después. En todo caso, quedaban bacilos viables en los animales tratados. En otra experiencia se administró la misma cantidad de estreptomycinina variando la dosis (2 mg. cuatro veces al día, 4 mg. dos veces al día, 8 mg. una vez al día y 4 mg. cuatro veces al día, una semana sí y otra no), y los resultados fueron comparables después de sesenta días de tratamiento.

Igualmente, tampoco se observó diferencia cuando condujeron una experiencia en la que los animales se inocularon con gérmenes de la cepa H 37 Rv., la bien conocida Ravenel, y con varias recién salidas de hombres tuberculosos.

La experiencia más interesante, a mi juicio, fué la siguiente: a 49 cobayas se les inoculó 0,001 mg. de bacilos de Koch. A todos se les hizo la reacción de la tuberculina a los cuarenta y dos días, con resultado positivo, y a los cuarenta y ocho días se les practicó una biopsia de hígado que mostró la presencia de nódulos tuberculosos en todos los animales. Al día siguiente se inició el tratamiento de 25 cobayas, quedando los otros 24 sin tratar. Este consistió en 1,5 mg. de estreptomycinina cada seis horas, durante ciento sesenta y seis días. Entonces, es decir, a los doscientos quince días de comenzada la experiencia, los resultados fueron: durante este período murieron el 70 por 100 de los animales no tratados, mostrando en la necropsia severas lesiones tuberculosas. En el 8 por 100 de los tratados su examen *post mortem*. mostró lesiones mínimas, y en el 52 por 100 de los casos no pudieron observarse lesiones groseras ni microscópicas. El 39 por 100 de los tratados no dieron la reacción a la tuberculina, y de éstos (nueve en número), siete cobayas no dieron señales ni microscópicas ni por inoculación de bacilos tuberculosos viables.

El análisis de las lesiones de los animales tratados fué el siguiente:

Sólo se observó en un caso una lesión en el hígado, que consistía en un pequeño nódulo atrófico. En el pulmón sólo hubo también un cobaya que mostraba simplemente un nódulo parenquimatoso solitario calcificado. En el bazo, catorce no mostraban microscópicamente lesión ninguna. De los restantes, siete tenían lesiones calcificadas; tres, fibróticas, y en uno consistían en tubérculos epitelioides o duros. Sólo dos animales se vió que tuvieran afectados los ganglios axilares, y en fin, en ningún caso se observaron signos residuales en los tejidos supraesternales en donde se practicó la inyección. Véase a continuación la tabla en que FELDMAN registra estos resultados, expresados conforme al Índice numérico adoptado por este autor (224 bis) para evaluar histológicamente la extensión y carácter de las lesiones tuberculosas en cada órgano o tejido:

T A B L A I

Gravedad media de la tuberculosis en diferentes localizaciones anatómicas expresada numéricamente. Datos basados en las características histopatológicas de los tejidos indicados.

GRUPO	Animales	Bazo (max. 35)	Pulmones (max 30 (*))	Hígado (max. 35)	Sitio de inoculación (max. 10 (**))	Índice medio de infección (max. 100)
Controles... ..	24	28	24,1	18,3	10	80,4
Tratados... ..	25	0,52	0,6	0,04	0,08	1,24

El interés de todos estos trabajos es evidente, así como el de los de SMITH y MAC CLOSKY (224), también en cobayas, y de YOUNG y MAC CARTER (225) en ratones, aunque en estos animales los resultados no fueron tan consistentes como en los conejos de indias.

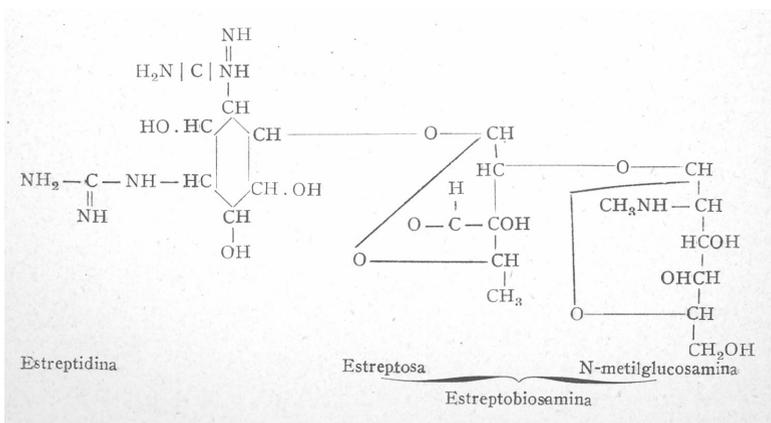
Estos estudios indicaron que con la estreptomycin se había encontrado un medicamento digno de ser empleado en la especie humana, pero este cuerpo no estaba exento de toxicidad. Los farmacólogos del Instituto Merck (MOLITOR, GRAESSLE, KUNA, MUSHETT Y SILBER) (226) publicaron un interesante trabajo sobre *Algunas propiedades tóxicas y farmacológicas de, la estreptomycin*. Estos investigadores pudieron apreciar que los fenómenos tóxicos encontrados al principio se debían a impurezas; una de ellas tenía cualidades histamínicas y desaparecía con la histaminasa, Los síntomas de intolerancia con grandes dosis se traducían en un estado de agitación con molestias respiratorias y pérdida de conciencia, y, finalmente, muerte por coma. La toxicidad es tanto mayor cuanto más rápidamente se hace la inyección intravenosa. Los síntomas varían según el sujeto experimental; el perro muestra trastornos en la función renal e infiltración

* Incluye la invasión de los ganglios linfáticos tráqueobronquiales cuando no se encontraron lesiones en los pulmones.

**Incluye los ganglios linfáticos contiguos.

lipoidea en el riñón e hígado y signos de perturbación cerebelar o laberíntica.

ENGELS (227) nos refiere el trabajo desarrollado por los científicos de Merck & C.^o para conseguir un producto puro. Cobayas tratados diariamente durante seis meses han mostrado un aumento de peso y tamaño análogo al de los cobayas sanos. En el ratón ningún órgano muestra perturbaciones, incluso con dosis superiores a las normales. Al principio las cantidades de estreptomycin se referían como las de penicilina, a unidades. Una unidad era la cantidad que inhibía una determinada de *E. Coli* en un centímetro cúbico de caldo nutritivo o agar (unidad S.), o en un litro (unidad L.). Después se expresaba la actividad de la estreptomycin en términos de peso de la base pura; un microgramo equivaldría a la antigua unidad y sería la unidad G., prevista por WAKSMAN. Mientras los primeros preparados contenían 35 unidades por miligramo, pronto se consiguieron preparados muy activos; a partir de los cuales se logró obtener la sal de Heliantina, que era cristalina, la cual daba luego un clorhidrato amorfo que tenía una actividad de 800 unidades por miligramo. Esta actividad no se pudo mejorar, y a partir del clorhidrato se obtuvo un complejo cristalina con cloruro cálcico. De esta sal repetidamente cristalizada, BRINK, KUEHL, FLYNN, PECK, HOFFHINE, PEEL Y FOLKES (228) fueron capaces de determinar su fórmula empírica, y luego, tras penosas fases de degradación de la molécula, afirmaron que era una base trivalente; es decir, que podía desintegrarse en tres partes, dos de las cuales eran azúcares y la tercera estaba relacionada con la inosita y la guanídina. Partiendo del cálculo de la fórmula empírica se vió que un miligramo correspondería a 1.000 unidades de las establecidas por WAKSMAN. Refiriéndola, por tanto, a esa base se expresa la actividad en gramos de producto.



A pesar de que la estreptomina es bastante estable, los compuestos sulhídricos, los reactivos de las cetonas y el suero y plasma humanos disminuyen su actividad (DENKEWALTER, COOK y SISHLER (229); BRINK, KUEHL Y FOLKES (230); DONOVICK, RAKE Y FRIED (231); HENRY BESKMAN y HOUSEWRIGTH (232), aunque según SCHOEMBACH y CHANDLER (233) no parece ser éste el caso frente a los estafilococos.

La estreptomina no se absorbe en el tracto digestivo, y por eso puede administrarse por vía bucal para combatir infecciones de localización intestinal. Se elimina por vía renal, pero más lentamente que la penicilina (solo la mitad o las dos terceras partes aparecen en la orina al cabo de las veinticuatro horas).

REGNA y WARSELLE (234) han demostrado que las sales de estreptomina que contienen menos de 1 por 100 de humedad no han perdido actividad biológica durante un año a la temperatura del laboratorio, y a 50 grados centígrados se mantuvo la actividad por lo menos durante cinco semanas. La estreptomina, sin embargo, no puede autoclavarse. Los ácidos y los álcalis tienen un efecto nocivo sobre la actividad de este fármaco.

Estreptomina B.- FRIED y TITUS (235) han descrito el aislamiento a partir de concentrados de estreptomina por fraccionamiento cromatográfico, de una nueva sustancia, a la que han denominado estreptomina B. RAKE y colaboradores (236) han visto que mientras la toxicidad de este producto es la misma que la de la estreptomina, en la tuberculosis experimental del ratón la B mostró la tercera parte de actividad (en peso), pero aproximadamente igual tomando como base las unidades actualmente aceptadas. Por último, diremos que, muy recientemente, EMERY y WALKER (237) publicaron un método químico de determinación de la estreptomina B.

RESULTADOS CLINICOS EN MEDICINA HUMANA CON LOS NUEVOS MEDICAMENTOS ANTITUBERCULOSOS

Sulfonas.-Los resultados obtenidos *in vitro* y en los animales de experimentación a que hemos hecho referencia adquirieron gran resonancia. Los grandes *magazinex* que tiran millones de ejemplares, se encargaron de publicar la buena nueva; la tuberculosis, aquella horrible enfermedad cuyo solo nombre amedrenta a tantos hombres, iba a ser vencida por nuevas drogas, debido al incesante trabajo de investigación de los sabios americanos. Pero esto no era más que un alarde sensacionalista, muy propio de los periódicos de aquel país.

La realidad la reflejaba el informe de las sociedades científicas, y he aquí, en resumen, el que escribió la Trudeau Society (Sección Médica de la Asociación Nacional de Tuberculosis (238), después de conocer la ex-

perimentación en animales tuberculosos hecha con diasone, promina, promizol, diaminodifenilsulfona y compuestos de este tipo. Se reconoce la capacidad de estos cuerpos para impedir el desarrollo de la tuberculosis en el cobaya, pero se considera que esta enfermedad ofrece muchas diferencias con la tuberculosis humana, aunque el agente causal sea el mismo. La limitada experiencia clínica y radioscópica con diasone no permite una adecuada valoración cuali y cuantitativa de su eficacia en la tuberculosis humana, no habiendo, por tanto, justificación para las campañas periódicas que, aunque inútilmente, se han tratado de evitar.

Hasta que se acumule una experimentación mayor, sólo deben emplearse estas drogas en sujetos hospitalizados en los que se puedan estudiar debidamente todos los efectos de estos medicamentos y combatir los posibles accidentes tóxicos de los mismos.

No cabe duda que casi todos los trabajos clínicos publicados sobre las sulfonas son prudentemente optimistas. Repetidas observaciones comprueban un apreciable efecto terapéutico, pero pocos son los autores que atribuyen sin reservas las mejorías clínicas al empleo de estas drogas.

La promina fué la primera sulfona ensayada en clínica humana (HINSHAW, PFUETZE y FELDMAN (239). En dosis superiores a uno o dos gramos diarios, administrados por vía oral, produce síntomas desagradables y, potencialmente, graves reacciones tóxicas. Incluso cuando se administran dosis menores se presentan frecuentemente acciones secundarias desagradables. Las manifestaciones tóxicas son dolor de cabeza, vagas molestias musculares, pérdida del apetito y anemia hemolítica, caracterizada por una muy activa regeneración sanguínea. Afortunadamente, todos estos síntomas son reversibles y desaparecen suprimiendo el medicamento. La anemia podría combatirse administrando hierro (HEAF, HURFORD, EISER y FRANKLIN (240) y extracto hepático. Estas propiedades tóxicas limitan mucho las dosis que pueden administrarse al hombre, que son sensiblemente inferiores en proporción de peso a las empleadas en el conejo de indias, aunque, sin embargo, la prominemia, tal como puede determinarse actualmente, es perfectamente comparable.

Estos efectos tóxicos no se producen haciendo aplicaciones locales, y muchos autores ingleses han comprobado este extremo. TYTLER y LAPP (241) la emplearon en el *lupus*, y también, localmente, la emplean HEAF y ROBIN (242), en las tuberculosis laríngeas. Todos estos ensayos y los realizados en la Clínica Mayo, con la aplicación local de promina, son muy alentadores. En general, ningún autor ha obtenido resultados concluyentes y todos se muestran interesados en que se hagan ulteriores trabajos que precisen mejor la eficacia de la promina.

En cuanto al diasone, puede decirse otro tanto. Un primer trabajo de PETTER y PRENZLAU (243), francamente optimista, no pudo ser posteriormente confirmado por otros autores, entre los que citaremos a DESMEULES, ROUSSEAU y GIROUX (244), en el Canadá; a ALARCÓN y GARCÍA SALAZAR, en Méjico (245), y a SWEANY (246), en Chicago. De todo ello no resulta

una manifiesta evidencia de la eficacia terapéutica del diasone (KETTEL-KAMP Y FRIEDMAN (247); BENSON y GOODMAN (248); CORPER y COHN (249). En cuanto al promizol, los trabajos de HINSHAW y FELDMAN (250) demuestran que se trata de la sulfona menos tóxica de las preparadas en los Estados Unidos. Parece ser que no actúa como tal sino previa transformación en el organismo. En todo caso, estos autores encuentran también los efectos tóxicos sobre el sistema hemático, pero su menor toxicidad permite disminuir la dosis de modo que el organismo sea capaz de suplir por su propia hematopoyesis la destrucción hemático (MILGRAM, LEVITT y UNNA (251); LINCOLN, STONE y HOFFMAN (252). Estudios posteriores han demostrado una acción bociógena del promizol, y cuando se utiliza en niños se acelera la aparición de las características sexuales secundarias en el pecho y pubis.

Por último, entre las sulfonas nos ocuparemos de la sulfetrona. Aunque este cuerpo fué obtenido hace doce años, la experimentación clínica del mismo no se ha publicado hasta el mes de julio de 1948. De estos estudios (BROWNLIE (253), ANDERSON y STRACHAN (254), MADIGAN (255), CLAY y CLAY (256), resulta que esta sustancia, como las restantes sulfonas, puede retrasar el desarrollo de la enfermedad y, por tanto, tiene gran utilidad al comienzo de la misma, en la que permite detener y, según algunos autores, curar (?) la infiltración. Cuando se trata de pulmones con lesiones tuberculosas muy avanzadas la curación resulta ya fuera del alcance de las sulfonas. Cuando un pulmón tiene una ligera infiltración y otro presenta lesiones más profundas, pueden aplicarse a éste los métodos quirúrgicos mientras las sulfonas detienen la enfermedad en el menos enfermo. Pero esto no se consigue siempre, como es lógico. En las formas agudas (tuberculosis miliar aguda y meningitis) no se obtienen resultados beneficiosos, pero sí en cambio en la tuberculosis miliar crónica y en las fibrocaseosas. Las fases exudativas e infiltrativas se detuvieron o incluso llegaron a curar.

La toxicidad es indudablemente menor que la de las sulfonas anteriores, pero produce, lo mismo que aquéllas, síntomas que pueden resumirse en dolor de cabeza, náuseas, vómitos, anorexia, anemia, cianosis y depresión, y en algunos casos perturbaciones visuales. La disminución de la hemoglobina sanguínea puede combatirse con hierro y levadura de cerveza.

En resumen, los autores ingleses dicen, como los americanos al tratar de las otras sulfonas, que debe utilizarse con precaución y que los resultados son lo suficientemente interesantes para justificar nuevos ensayos del medicamento. Algunos se muestran más optimistas. ANDERSON y STRACHAN, que en 100 enfermos obtienen 12 ligeras mejorías y 40 grandes mejorías (en 12 no apreciaron resultado alguno, 10 empeoraron y 26 murieron durante el tratamiento), ven en esta sulfona un medio seguro para la quimioterapia de la tuberculosis pulmonar que puede ejercer un efecto favorable en ciertos tipos de esta dolencia.

Estos resultados -dicen- dan base para creer que es posible el *control* de la tuberculosis por medicamentos químicos¹.

Acido paráaminosalicílico. - Los primeros ensayos fueron realizados por los autores suecos (LEHMAN (257), SIEVERS (258), VALENTIN (259), y posteriormente se han ocupado otros autores (EDEREI y SNELL (260), DEMPEY y LOGG (261). Sin embargo, la experimentación no ha sido muy copiosa por las dificultades que ha presentado el conseguir el medicamento. La conferencia pronunciada por LEHMAN durante Su estancia en Madrid nos dió cuenta de la experimentación llevada a cabo en Suecia. Posteriormente, otros trabajos han aparecido en Inglaterra, y de todos ellos puede llegarse a la conclusión de que la experiencia realizada es, por ahora, insuficiente.

EDEREI, después de cuatro meses de tratamiento de algunos de sus enfermos, ha podido mantener, además de la disfunción de la temperatura con aumento de apetito, mejoría del peso, disfunción de la toxicidad de la infección, un favorable cuadro radiológico y una gran reducción del número de bacilos en los esputos.

Este autor no ha encontrado los síntomas de intolerancia, que atribuye a impureza del ácido paraaminosalicílico. Por de pronto, hay una diferencia fundamental entre la publicación de LEHMAN (262) y la de FELDMAN, KARLSON y HINSHAW (263), pues mientras el primero dice que el ácido p. a. s. mata al cobaya dentro de los cinco días de administración, los

¹ Las sulfonas han venido a constituir el tratamiento de elección de la lepra. Esta terrible enfermedad, sin duda la más justamente temida, se trató, sencillamente, hasta hace poco tiempo por el aislamiento en las leproserías, como en los tiempos bíblicos. Hoy se sabe en qué períodos deben aislarse los enfermos y cuándo pueden dejarse libres. Aunque es una enfermedad que indudablemente tiende a desaparecer, aun hay cerca de cincuenta millones de leprosos que esperaran la ayuda de algún medicamento que los libre de tan horrible enfermedad. La cirugía tiene en ella un papel no despreciable, y entre los medicamentos, al nauseabundo aceite de chaulmoogra, empleado en la India ha sucedido el jabón sódico de los ácidos chaulmoógrico y ginocárdico, introducido por sir LEONARD ROGERS. Hoy son las sulfonas el tratamiento de elección en España, la promina y el diasone según me decía recientemente el doctor A. SAINZ DE AJA, y en el extranjero se han ensayado estas y el promizol, y últimamente, la sulfetrona, que en el Congreso Panamericano de Leprología de la Habana, en el mes de abril de este año, parece que se considera como la droga de elección (*Chem. Drugg.*, 2 de octubre de 1948, pág. 444). Los doctores brasileños SOUZA LIMA, CASTRO CERQUEIRA y BRAGA, de Sao Paulo, dicen que la regresión de las manifestaciones cutáneas y los hallazgos baciloscópicos, en el 93 por 100 de los pacientes hacen de las sulfonas el más eficaz recurso terapéutico para el tratamiento de las personas leprosas, y lo mismo opinan FAGET y ERICKSON (*J. A. M. A.*, 136, 451, 1948) y, en fin, todos los autores. Consúltense las colecciones del *Leprosy Review* (en el imperio británico se calcula la existencia de unos dos millones de leprosos) y el *Journal of Leprosy, etc.*; véanse también editoriales *J.A.M.A.*, 136, 830, 1948; *Brit. Med. J.*, II, 655, 1946; *Lancet*, I, 524, 1948 y II, ;300, 1948; *Leprosy Rev.*, 17, 87, 96, 1946; CONTRERAS: *Medicina*, 16, 378, 1948; SIR LEONARD ROGERS: *Brit. Med. J.*, I, 826, 1946; MUIR: *Manual of Leprosy*, Edimburgo, 1948.

autores americanos propinan el P. A. S. durante ciento doce días a sus cobayas sin ocasionarles la muerte.

La impresión, no obstante, es que nos encontramos ante un medicamento sumamente interesante, que hasta el presente acaso no se ha manejado con la técnica óptima (las mismas dosis óptimas no se han establecido todavía), pero que tiene grandes posibilidades. Su acción, según LEHMAN, sería bacteriostática; pero hay que admitir también un influjo directo sobre el enfermo, que resulta muy beneficioso. La aplicación local en el empiema tuberculoso parece haber dado buenos resultados.

Streptomycin.- De todos los nuevos medicamentos es, sin duda, éste el que mejores resultados viene proporcionando en el tratamiento de la tuberculosis. Las dificultades de preparación encontradas al principio para obtener un producto puro fueron ya sobrepasadas, y la industria farmacéutica americana ha podido proporcionar cantidades ingentes de este antibiótico, que se ha abierto paso en estos dos últimos años.

Por esta razón, las publicaciones médicas que en todo el mundo se ocupan de la eficacia terapéutica y de la toxicidad de este fármaco, son tan numerosas que es prácticamente imposible reseñarlas. Diremos, sin embargo, que como consecuencia de la experimentación *in vitro* y en el cobaya, las dos primeras publicaciones procedieron de la Clínica Mayo (264).

Entre todos estos informes hay dos que merecen destacarse; primero, por la personalidad científica de sus redactores, y segundo, por haber dispuesto de un abundante material humano y facilidades de toda índole para realizar un completo estudio. Me limitaré, por tanto, a hacer un resumen de estos trabajos. Procede uno del Council de Farmacia y Química de la Sociedad Americana de Medicina, y el otro, del Subcomité de la Estreptomycin de la Sección de Terapéutica de la Sociedad Americana Trudeau (265).

Los enfermos fueron 930, habiéndose hecho de todos ellos un estudio concienzudo durante los sesenta días que precedieron a la instauración del tratamiento, y elegido únicamente los pacientes que, durante estos dos meses, mostraron agravación de sus lesiones o, por lo menos, un estacionamiento de las mismas. La presencia del bacilo de Koch se comprobó en todos los casos en los esputos o en el estómago (incluso por inoculación en cobayas). Se admitieron a tratamiento, de preferencia, los enfermos moderadamente avanzados o los más avanzados, en los que, por lo menos, se esperase una supervivencia de un año en el caso de que no se hubieran tratado con estreptomycin. También se dió preferencia a los casos que mostraron a los rayos X formas exudativas. Se procuró que fueran enfermos que hicieran reposo en sanatorios o, si no, que durante el tratamiento continuasen el mismo régimen de vida que antes. También se procuró que no estuvieran sometidos a ningún sistema colapsoterápico, aunque esto no fué posible entre los enfermos de los hospitales de las Fuerzas armadas. La dosis fué, inicialmente, de 0,3 gramos, en inyección intramuscular, cada

cuatro horas (1,8 gramos diarios), durante ciento veinte días. A partir de diciembre de 1946, la dosis fué aumentada a dos gramos diarios (0,4 gramos cada cuatro horas, empezando a las ocho de la mañana y terminando a medianoche). Todos los enfermos se sometieron a estudios renales, hematológicos y auriculares para descubrir los efectos tóxicos, y a las demás pruebas clásicas para ver el curso de la enfermedad, a las que se agregó la determinación de la concentración de estreptomycin en sangre y suero.

Ulteriormente se estudió el efecto de la estreptomycin en tuberculosis de la piel, de los ganglios, g nitourinaria y tráquea bronquial. El informe del Council nos revela los siguientes resultados:

Pulmonar (434 casos).- Actúa favorablemente sobre una gran mayoría de lesiones exudativas progresivas o estacionarias. Este efecto resulta más manifiesto en los primeros sesenta o noventa días de tratamiento. Las recidivas ocurren cuando se suspende el tratamiento o incluso, algunas veces, antes que éste termine, si es muy prolongado. Sólo en algún raro caso podría pensarse en una verdadera curación. De todas formas, los resultados de la estreptomycin en enfermos que hacían cura de reposo en cama fueron superiores a los que se consiguen por este método sin el antibiótico. No se pudo comparar esta terapéutica con la colapsoterapia y, en general, se sacó la impresión de que la estreptomycin es un coadyuvante de otros tratamientos, sirviendo también como terapéutica preoperatoria.

G nitourinaria (41 casos).- Los resultados fueron muy buenos, tanto en cuanto a la marcha de las lesiones como a la disuria y a la capacidad de la vejiga urinaria. Los bacilos desaparecen de la orina. Un estudio más dilatado podrá informar del tiempo que dura esta mejoría.

Huesos y articulaciones (24 casos).- Los resultados no parecen muy prometedores.

Linfadenitis y lesiones cutáneas fistulosas (90 casos).- El efecto de la estreptomycin ha sido notablemente favorable y los resultados lo suficientemente uniformes para poder establecer la utilidad de esta droga.

Tr queobronquial y laríngea (81 casos).- La estreptomycin se administró intramuscularmente (2,4 gramos diarios) y 0,5 gramos en forma de aerosol. No cabe discusión respecto a la gran eficacia de la estreptomycin en las tuberculosis laríngeas y del árbol tr queobronquial. Se aconseja la vía intramuscular sola o combinada con aerosol, pero no esta última exclusivamente.

Tracto digestivo y peritoneo (16 casos).- Aunque no son muchos los casos tratados de tuberculosis de lengua, amígdalas, estómago y peritoneo

los resultados permiten afirmar que la estreptomina por vía intramuscular es de gran valor.

Pericárdica, cutánea y ocular (8 casos).- Insuficiente experiencia. Debe continuarse este estudio.

Miliar y meníngea (118 casos).-Estos casos pueden desglosarse según el cuadro siguiente:

TUBERCULOSIS MILIAR Y MENINGEA TRATADA CON ESTREPTOMICINA									
ENFERMEDAD	Número de casos	Fallecidos			Supervivientes				
		Siguiendo el tratamiento Días			Siguiendo el tratamiento Días			Tratamiento terminado	Total
		1-45	46-180	Total	1-60	61-120	120-180		
Diseminación miliar aguda	27	3	4	7	1	7	3	9	20
Miliar y meníngea combinada	40	15	14	29	0	6	1	4	11
Meníngea	51	16	13	29	2	12	2	6	22
Número total	118	34	31	65	3	25	6	19	53
Tanto por ciento	100	28,9	26,2	55,1	2,4	21,2	5,1	16,2	44,9

La resolución favorable de las lesiones miliares, sin precedentes con otras medicaciones, y la dramática respuesta en las meningitis tuberculosas, muestran la indiscutible eficacia de la estreptomina frente al bacilo de Koch y obliga, sin discusión, a su empleo en estas formas de tuberculosis diseminada. La proporción de mortalidad de la tuberculosis miliar puede reducirse, pero es dudoso que se reduzca aún más la de la meningitis.

Cirugía torácica: (104 casos).- Serían necesarios, por lo menos, 700 casos para poder juzgar de la eficacia de la estreptomina como medida preoperatoria en las tóraxoplastias. Para evitar pérdidas de tan precioso fármaco acaso convendría limitar su empleo, no como profiláctico, sino como tratamiento de la diseminación bacilar postoperatoria en los casos en que ésta se produzca.

Finalmente, en el informe se habla de la

Toxicidad.- Cuando se emplea por breve espacio de tiempo no se muestra tóxica; pero utilizada durante largo tiempo no debe hacerse la medicación sin la adecuada vigilancia del médico. En 49 enfermos, es decir, en un 6 por 100, se presentaron síntomas de intolerancia. Más impor-

tante para el enfermero que para el paciente es la producción de dermatitis por contacto con la droga, de más gravedad si se producen en la cara y, sobre todo, en la conjuntiva. Debería, por esta razón, manejarse con guantes.

La inyección intramuscular repetida puede producir una reacción local, cada vez menor con las preparaciones más puras. La inyección intratecal no debe ser superior a un miligramo por kilo de peso del cuerpo del enfermo. Dosis mayores (de 100 a 200 miligramos) no sólo produjeron aumento del contenido celular sino también del contenido en proteínas del líquido céfalorraquídeo, y dolores que irradiaban a lo largo del ciático y, a veces, paraplejía con parestesias. En muy pocos casos se produjeron náuseas y vómitos. Se observó un caso de ictericia, otro de psicosis tóxica, cinco de ligera leucopenia con neutropenia y cuatro de agranulocitosis (en total, estas alteraciones sanguíneas representan el 0,98 por 100). En un 0,8 por 100 se produjo una dermatitis exfoliativa. La suspensión del medicamento restauró la normalidad en todos estos casos. También se produjo en algunos casos cierta eosinofilia y prurito eritematoso.

La toxicidad renal se manifiesta por la presencia de cilindros y albúmina en la orina, que no justifican, sin embargo, la suspensión de la medicación. Sólo en los casos de disfunción renal los efectos tóxicos justifican la no continuación de la estreptomycinoterapia.

La más corriente e importante reacción tóxica es una específica y extraordinaria perturbación de la función vestibular. Un análisis preliminar de esta disfunción hace que se localice en el sistema nervioso central, más concretamente, en los núcleos del octavo nervio craneal. En el 96 por 100 de los enfermos en que aparecieron estos trastornos hubo vértigos que estaban en relación con la hora de administración de la estreptomicina, y probablemente con su nivel en la sangre. Generalmente, con una dosis de 1,8 a 2 gramos diarios suelen presentarse a las cuatro semanas, y a veces pueden ser simples mareos, pero en todo caso sin interrumpir el tratamiento, cada vez se van haciendo menores y terminan por desaparecer; sin embargo, la hipofunción o afunción vestibular continúa durante meses, y aun permanentemente, después de terminado el tratamiento y se puede observar cómo disminuye la sensibilidad del oído interno para los estímulos caloríficos. Aunque el enfermo trata de suplir esta deficiencia con ayuda de los otros sentidos, se observa cierta dificultad en la locomoción, que persiste más 'en la oscuridad. Aún se discute la trascendencia de esta disfunción para la capacidad o invalidez del paciente, pero en todo caso hace pensar en la conveniencia de no administrar la estreptomicina en enfermos con lesiones pulmonares mínimas en los que podría ser más peligroso el remedio que la enfermedad.

Otro efecto sobre la función del octavo par craneal, que se encontró en mucha menor proporción (nueve casos), fué la disminución de la capacidad auditiva, que se produce de un modo progresivo, y posiblemente puede terminar por la sordera total, si se prolonga el tratamiento. En estos casos, el enfermo fué quien decidió si quería continuarlo o no.

Actualmente la casa Merck ha conseguido preparar dihidroestreptomina, que, ensayada en la Clínica Mayo por LEVIN, CARR y BROWN en animales, y por HINSHAW, FELDMAN, CARR y BROWN en enfermos tuberculosos, parece estar desprovista de los efectos neurotóxicos de la estreptomina sin hidrogenar, a la que, seguramente, dentro de poco tiempo desplazará en terapéutica.

Gran trascendencia tiene la producción de bacilos de Koch resistentes a la estreptomina. Los estudios *in vitro* han servido para fijar que todos los cultivos del *Mycobacterium* (ciento treinta y dos cepas diferentes aisladas de los esputos o de la orina) de los enfermos, antes de someterlos a la estreptominaoterapia, son sensibles a una concentración de tres microgramos de antibiótico por centímetro cúbico *in vitro*, y la gran mayoría a una dosis tres veces menor. Las determinaciones hechas en el plasma de la sangre de estos enfermos, sometidos a las dosis conocidas, acusan una concentración no inferior a cinco microgramos, y como en el líquido pleural, en el del drenaje de las cavernas pulmonares y en la secreción bronquial no es menor de la mitad de aquel valor, es evidente que se logra una concentración de antibiótico capaz de ejercer efectos desastrosos sobre el bacilo de Koch.

Pero a medida que avanza el tratamiento, los bacilos aislados y ensayados *in vitro* se van haciendo resistentes a la estreptomina. En un caso, a los treinta y cinco días los bacilos resistieron *in vitro* a 500 microgramos de estreptomina por centímetro cúbico. Si aceptamos, como es lógico suponer, que esta resistencia *in vitro* equivale a una resistencia *in vivo*, debería suspenderse entonces la medicación, que ya resulta completamente ineficaz, y en este caso, lo que habría que hacer es determinar el momento de producirse esa resistencia. En términos generales, puede afirmarse que después de ciento veinte días de tratamiento los bacilos de las dos terceras partes de los tuberculosos son estreptominaresistentes.

La gravedad de este hecho no es sólo de interés para el enfermo, sino que tiene gran importancia epidemiológica, dadas las posibilidades de contagio de bacilos ya resistentes a la estreptomina.

Ya YOUMANS, WILLISTON, FELDMAN Y HINSHAW (266) habían demostrado que los bacilos de Koch virulentos pueden adquirir la resistencia a la estreptomina *in vitro*, bien por la acción prolongada de esta droga o bien por haber tratado al paciente con este antibiótico y, naturalmente, esto planteó la cuestión de si los bacilos estreptominaresistentes eran todavía virulentos y patógenos o no. YOUMANS y WILLISTON (267) demostraron en el ratón la virulencia de estos gérmenes, y también que en estos animales la estreptomina no producía sus conocidos efectos bacteriostáticos.

Parece ser que, en realidad, no son los bacilos de Koch sometidos a la estreptomina los que se hacen resistentes, sino sus descendientes. A medida que el *Mycobacterium* va reproduciéndose, las nuevas generaciones van soportando el antibiótico, y puede llegar a darse el caso de que incluso, habituadas a él, llegue a ser la estreptomina más que un medi-

camento, más que un antimetabolito (en el supuesto de que la estreptomina actuase como tal, cosa que no es más que una suposición, pues hasta el presente no sabemos por qué mecanismo la estreptomina ejerce su efecto terapéutico), llegue a ser, repetimos, un metabolito esencial para esas razas de bacilos de Koch. Que nosotros sepamos, esto no se ha investigado con el *Mycobacterium tuberculosis*; pero diversos autores (MILLER y BOHNHOFF (268); KUSHNICK, RANGLES, GRAY y BIRKELAND (20); RAKE (270), producen mutantes de meningococos, de *E. coli* y de otros gérmenes que necesitan la estreptomina para desarrollarse y reproducirse. Esta resistencia frente a los antibióticos, que es bien conocida para la penicilina y para las sulfamidas, condujo al ensayo de las

Asociaciones medicamentosas.- SMITH y MAC CLOSKY (271) emplearon ya, en 1945, la combinación de promina y estreptomina.

Buscar el sinergismo de dos o más medicamentos no es cosa nueva en Farmacología ni en Terapéutica; con los antibióticos existía ya cierta experiencia; por ejemplo, con la penicilina. UNGAR (272) demostró *in vitro* que la sulfapiridina y el sulfatiazol casi duplicaban la eficacia de la penicilina contra el estafilococo dorado, y en vivo, Soo-Hoo y SCHNITZER (273) y SULTAN JENKINS y CUTTING (274) han demostrado la potenciación de la penicilina por las sulfamidas frente a la infección experimental por el estreptococo y el neumococo.

A SMITH y MAC CLOSKY (275) corresponde, sin embargo, el mérito de haber demostrado que la promina, la sal sódica del 4-amino-4' galacturonilamino-difenil-sulfona y otras sulfonas, en dosis que no se muestran muy eficaces contra la infección del cobaya por el *Mycobacterium tuberculosis*, asociadas con estreptomina son superiores a este antibiótico utilizado aisladamente, y en todo caso, los resultados logrados superan a los que producirían las mismas dosis no asociadas.

COLLOMON, KOLMER, RULE y PAUL (276), por otra parte, han hecho observaciones semejantes con el diasone y la estreptomina en la tuberculosis experimental del cavia. Análogas experiencias realizan en el cobaya BROWNLEE y KENNEDY (277) con sulfetrona y estreptomina, y más recientemente, VENNESLAND, EBERT y BOCH (278), con estreptomina y ácido paraaminosalicílico, *in vitro* y en vivo.

La única limitación de estas medicaciones combinadas sería acaso la potenciación de los efectos tóxicos. Como apunta KOLMER (279): "En verdad, la combinación de un compuesto sulfónico como el pronizol con la estreptomina, se ha visto en ensayos clínicos que representa una gran ayuda en el tratamiento de la tuberculosis. Es posible que dosis menores de la última puedan emplearse no sólo con la ventaja de disminuir la acción nociva reversible e irreversible sobre el laberinto y los nervios auditivos, sino también de reducir las posibilidades de resistencia adquirida por el bacilo a la estreptomina.

En clínica humana son pocos los trabajos hechos todavía en esta dirección y, por tanto, aún no se puede emitir juicio sobre esta terapéutica

asociada. En un primer trabajo de MADIGAN, SWIFT y BROWNLEE (280), los seis casos tratados, por su índole y por lo reducido del número, no permiten sacar conclusiones de la eficacia de la sulfetrona y de la estreptomina aplicadas conjuntamente.

* * *

Esto es, señores, lo que el hombre ha conseguido hasta el momento actual en su búsqueda de medicamentos contra la tuberculosis. Acaso os sintáis defraudados, porque esperaseis más, cuando recapacitéis sobre el terrible azote que representa la peste blanca. Pero yo quiero daros unas palabras de consuelo. En primer lugar, sobre la enfermedad, y en segundo, sobre su tratamiento. La tuberculosis, poco a poco, tiende a desaparecer de la faz de la tierra, aunque en la actualidad se calcula la existencia de diez a veinte millones de tuberculosos. Tomando como base las estadísticas de mortalidad por esta enfermedad en los Estados Unidos, que si en 1900 era de 20 por 10.000 habitantes, había descendido a 4 en 1945, DUBLIN (281) llega a la conclusión de que en 1960 ya no morirá de tuberculosis ningún habitante de aquel país. Todos nos sonreímos ante esta afirmación, producto de una especulación de estadística matemática. Una vida sana y una alimentación conveniente son el mejor preventivo, y el reposo y la vida sanatorial, con la aplicación de los medios bien conocidos de la colapsoterapia, contribuyen a estos resultados. La vacunación preventiva por el B. C. G. está produciendo resultados maravillosos en los países que, como Noruega, se han preocupado seriamente de su instauración, y todo ello contribuye a nuestro optimismo; y en cuanto a los medicamentos, que es el tema de este discurso, ¿no podemos mostrarnos optimistas? Mi respuesta es positiva. Habéis seguido los esfuerzos que el hombre ha realizado hasta llegar a conocer bien la enfermedad y su agente causal; habéis visto cuanto trabajo ha desarrollado para lograr medicamentos antibacterianos. Hace tan sólo quince años parecía un sueño, fuera de las posibilidades humanas, conseguir agentes quimioterápicos para combatir una fiebre puerperal producida por estreptococos o por estafilococos. La fiebre en agujas, característica de la septicemia estafilocócica, es prácticamente incurable, nos decían cuando estudiábamos Obstetricia. y de la neumonía, ¿qué nos enseñaban? Respecto a la medicación, no hay nada que hacer: tonificar el corazón y esperar angustiosamente el clásico período de los siete días. Y hoy, todos saben cómo se han vencido estas enfermedades gracias a las sulfamidas y a los antibióticos.

El problema de la tuberculosis, se nos dice, es aún mucho más difícil. El hecho de que el bacilo produce en el organismo, más que anticuerpos inmunizantes, anticuerpos alergizantes, agrava el problema, y su cubierta lipocérea protectora y el llegar a situarse el microbio en tubérculos avascularizados le hacen inaccesible a los medicamentos químicos.

Esta situación, realmente, no es muy halagüeña y animadora; pero, sin embargo, no debe servir para producir desaliento. Antes recordaba que hasta el descubrimiento de las sulfamidas nos encontrábamos ante un apa-

rente callejón sin salida para el tratamiento de muchas enfermedades bacterianas, y vemos cómo ha cambiado la situación.

¿No tenemos, por tanto, derecho a pensar que en fecha, tal vez próxima, consigamos medicamentos de gran valor y especificidad contra la peste blanca?

Vamos a examinar, siquiera sea someramente, cuáles son, a mi juicio, los caminos que, a la luz de los actuales conocimientos, están abiertos a un trabajo fecundo.

Primero. De un modo general, se hace necesaria la unificación de los métodos de investigación, a fin de que los resultados obtenidos en cualquier país y por cualquier escuela de investigación sean perfectamente comparables, lo que permitirá apreciar de un modo seguro si el camino emprendido es digno de continuarlo o debe abandonarse, lo que tiene una gran importancia en un tipo de experimentación que adolece del grave defecto de la obligada lentitud. Sin embargo, no hay que olvidar que mientras la tuberculosis en los animales de experimentación suele ser aguda o subaguda, son diferentes las lesiones fibrocáseas de la enfermedad crónica del hombre adulto.

Aunque los estudios *in vitro* hemos visto que no proporcionan resultados paralelos a los que resultan de la experimentación animal¹ son muy interesantes y sirven para establecer con relativa rapidez, pues los cultivos son más lentos que los de otras bacterias, si una nueva sustancia merece ser ensayada con animales. A este respecto, son interesantes los medios sintéticos, que por contener Tween 80 (0,5 por 1.000), como el de DUBOS (284) o el modificado de KIRCHNER, permiten un crecimiento rápido del bacilo. El Tween80 es un éster del ácido oleico *que* parece que es absorbido en la superficie del bacilo, haciéndole así dispensable en el agua. En un trabajo reciente de DUBOS (285) sobre el *Análisis de la infección tuberculosa*, el ilustre descubridor de la gramicidina prefiere el ratón (al igual que MARTIN, YOUMANS y otros autores), a pesar de sus lesiones más bien atípicas no necróticas, e indica la importancia de la raza y edad del animal y de las condiciones de alimentación, que tienen gran trascendencia. No menos la tiene la posibilidad de que el animal adquiera otra enfermedad aguda, y así, la inoculación del virus de la *influenza* acelera y propaga la tuberculosis en los animales. La cepa del bacilo y su virulencia, origen y forma de hacer la inoculación, la cantidad de micobacteria inoculada y luego el momento de aplicar el remedio antituberculoso, son factores muy dignos de tener en cuenta, y que, a nuestro juicio, deberían ser sometidos a tipos internacionales para poder justipreciar los resultados hallados.

El cobaya ha sido el animal más empleado, aunque tiene el inconveniente de su falta de resistencia natural a la enfermedad y de que en los

¹ CORPER y COHN (282) por ejemplo, citan el caso de un cuerpo mil veces más activo que la estreptomycin *in vitro* y que, sin embargo, es inactivo *in vivo*. Véanse también, entre otros, DUCA, WILLIAMS y SCUDIN (283).

ensayos, a causa de su peso mayor, son necesarias cantidades más altas de medicamentos. El medio gráfico de expresar los resultados, ideado por FELDMAN (286), que ha estudiado profundamente esta cuestión, nos parece muy digno de ser tomado en consideración. (Véase página 15.)

También se emplea para el estudio de los medicamentos antituberculosos la acción de los mismos en la infección de la membrana corioalantoidea del embrión del pollo, utilizando gran número de huevos. El método parece interesante, pero no está aún tan bien estudiado como los anteriores.

Segundo. Considero del máximo interés el estudio de la bioquímica del bacilo, el determinar sus metabolitos esenciales y el estudiar el metabolismo intermedio del bacilo de Koch. Ya hemos visto que el empleo del ácido paraaminosalicílico encontró su fundamento en observaciones de este tipo, y también los ensayos realizados con ácidos grasos de constitución parecida a la de los que normalmente existen en el germen. ANDERSON y NEWMAN (287) aislaron el fticol (2 metil 3 hidroxil, 1 : 4 naftoquinona) del bacilo de Koch, por la que ILAND (288) ha iniciado el ensayo de diversos cuerpos de este tipo como posibles antagonistas quimioterápicos de este metabolito del *Mycobacterium tuberculosis*,

En este terreno hay mucho que hacer, y una de las dificultades es que el bacilo de Koch puede sintetizar por su cuenta casi todos los metabolitos esenciales a partir de cuerpos muy sencillos, lo que le permite una gran independencia. Por otra parte, su capacidad de adaptación hace que incluso una sustancia antituberculosa pueda llegar a serle indiferente o incluso, como ya se ha dicho, un demento necesario a su desarrollo y multiplicación (SPENDLOVE, CUMMING, FACKLER y MICHAEL (289). Esto tiene un enorme interés, práctico, pues los gérmenes de un enfermo pueden resultar inafectados por el antibiótico e incluso transmitir la enfermedad estreptomycinresistente, toda vez que, experimentalmente, se ha comprobado la ineficacia de la estreptomycin (YOUMANS y WILLESTON (290) en estos casos.

SHILLER (291) afirma que usando medios sintéticos para el cultivo de levaduras, en los que la única fuente de nitrógeno para ellas la constituían bacilos *tuberculos*, pudieron desarrollarse a sus expensas con eliminación del germen patógeno, que llegaba a desaparecer. Desgraciadamente, estos experimentos no han sido confirmados (BARGLOWSKI (292); pero quién sabe si con el tiempo esta clase de estudios podrá conducir a éxitos inesperados.

Los que seguimos de cerca el desarrollo de la farmacología vemos que hoy no sólo se intentan nuevas síntesis de compuestos que conduzcan a cuerpos útiles en terapéutica, sino que en los estudios fármacodinámicos se echa mano de sustancias que, descubiertas hace tiempo, vuelven a estudiarse desde el punto de vista farmacológico. El D. D. T., por ejemplo, es una sustancia sintetizada hace muchos años, y lo mismo podríamos decir de otras muchas, por lo que el valor del farmacólogo se acrecienta de día en día; y a este respecto, debemos decir que en el plan de estudios

de Farmacia echamos de menos un mayor interés por la fisiología animal y la farmacología, que resultan fundamentales para el hallazgo de nuevos medicamentos y para la valoración y ensayo de muchas sustancias que, por su complejidad, requieren valoraciones biológicas.

En este sentido, podría suceder que el ensayo sistemático de innumerables compuestos nos permitieran encontrar alguno muy activo contra el bacilo, y por el conocimiento de su constitución podría inferirse de un modo inverso cuál sería el metabolito esencial, lo que, a su vez, encaminaría a nuevas modificaciones moleculares conducentes al hallazgo de fármacos más activos.

Entre las sustancias químicas podrá, tal vez, encontrarse alguna particularmente eficaz. FEINSTONE (293) ha ensayado, por ejemplo, un nuevo tipo de sustancias sintéticas antituberculosas, como el 5 amino 2 butoxipiridina; y en el Brasil se han ensayado últimamente derivados del ácido tricloroacético, siendo los más eficaces, los del tipo x-benzeno b. tricloroacetil naftilamina (294). Entre las plantas superiores, la umbelífera *Centella asiática*, empleada como remedio clásico en la India contra la lepra y la sífilis, proporciona un remedio llamado asiaticósido, que en Madagascar ha sido ensayado con éxitos alentadores en la lepra, y recientemente, los autores franceses BOITEAU y SARACINO (295) han visto su eficacia en el *lupus eritematoso* y en la tuberculosis del cobaya.

En el campo de los antibióticos, las posibilidades son enormes. Muchos son los hongos y las bacterias que aún no han sido estudiados desde el punto de vista antituberculoso, y aun dentro de los, estudiados caben muchas posibilidades. Las más interesantes, sin duda, son las de la estreptomycin. Hemos visto que hay una forma B, y el mismo WAKSMAN (296) ha aislado la estreptomycin II de un *Streptomyces*, al que llama *S. bikiniensis*, por haberlo aislado del suelo de Bikini durante el tiempo en que este autor asistió al ensayo de la bomba atómica. Esta estreptomycin aún no ha sido bien purificada, pero parece menos tóxica que la estreptomycin del *S. griseus* cuando se ensaya en el embrión de pollo de once días.

De igual manera que modificando los medios de cultivo del *Penicillium notatum* y produciendo artificialmente mutaciones en el hongo, se llegó a obtener las penicilinas G (benzil), F (2 pentenil), K (heptil) y X (hidroxibenzil), y un dihidro F, es lógico, suponer que estos o parecidos resultados podrán lograrse con la estreptomycin. Igualmente, el empleo de sustancias del tipo de la caronamida, que inhibiendo la excreción renal de la estreptomycin produzcan, como en el caso de la penicilina, elevados porcentajes de antibiótico en la sangre, podría tener un gran interés, dado el elevado coste del medicamento.

En fin, el número de posibilidades es incalculable en la antibioterapia de la tuberculosis, que prácticamente no ha hecho más que iniciarse, y que ya ha proporcionado tan interesantes resultados.

Otra consideración que surge del análisis que acabamos de hacer es el relativo a la imposibilidad de que los medicamentos antituberculosos

lleguen a penetrar dentro del tubérculo, a causa de su falta de irrigación sanguínea y linfática; pero a este respecto debemos recordar cómo varios colorantes vitales, el hierro y el yodo eran capaces de llegar al asiento mismo del bacilo. Si aquellos colorantes fueron inactivos ello no prejuzga que otros cuerpos activos no puedan igualmente alcanzar al *Mycobrocterium* en su refugio más seguro. Por otra parte, es evidente que la vida de estos bacilos se mantiene mediante sustancias nutritivas capaces de pasar al centro del tubérculo y de la sustancia caseosa. La cubierta lipocérea puede, igualmente, ser atacada, y los ensayos a que antes hicimos referencia, con cuerpos del tipo del ácido ftioico, es posible. que marquen un camino. Finalmente, otro motivo de dificultad para la quimioterapia de la tuberculosis es la misma índole de la enfermedad. Si se trata de un proceso alérgico en que la fagocitosis está prácticamente anulada, nada adelantaremos con conseguir medicamentos que, como las sulfamidas, las sulfonas, la penicilina y la estreptomycin, no hacen más que producir una bacteriostasia, ya que el organismo infectado se encuentra incapacitado de aprovecharse de ella destruyendo los gérmenes imposibilitados de multiplicarse.

FAVOUR (297). ha estudiado el efecto que *in vitro* posee la tuberculina sobre los linfocitos de la sangre o del bazo de los cobayas, el cual es nulo para los de los animales normales o infectados con *S. enteriditis*, y, en cambio, si proceden de un animal tuberculoso ocasiona una lisis leucocitaria. Esta linfoólisis es específica y podría explicar lo que antes decíamos; pero, en cambio, la tuberculina no produce este efecto en presencia de un *puffer* de fosfato de *pH* 7,2. ¿Quién nos dice que, con el tiempo, no se descubrirá un medicamento que, al destruir esta acción de la tuberculina y del bacilo de Koch, podría ser utilizado en terapéutica? A este respecto, conviene recordar las experiencias de CHASE (298), confirmadas posteriormente por otros autores (HOYT y GATTSHALL (299), STAVITSKY (300), que conceden el debido valor a la intervención de los leucocitos en los fenómenos inmunológicos. Si bien, insistimos, que remitimos al lector al trabajo de GRACIÁN, sobre alergias e inmunidad en tuberculosis, para no hacer aún más extenso este discurso.

Pero el estudio del problema de la medicación de la tuberculosis no sería completo si no tomásemos en consideración el organismo infectado. Comenzábamos diciendo, con DOPTER y SACQUEPPÉE, que todos somos tuberculosos, y agregamos que de cada ocho personas que mueren, una es de tuberculosis. Esto quiere decir que son muchos los que se libran de la muerte por el bacilo de Koch. Incluso hemos visto también que cada vez este germen produce menos víctimas. El hombre se defiende contra la tuberculosis. Una alimentación adecuada y una vida sana son, acaso, el mejor antídoto contra el veneno tuberculoso. ¿ No podrían actuar los medicamentos antituberculosos más bien sobre el paciente que sobre el germen patógeno? Esta posibilidad es innegable. Ya hemos visto que, en ocasiones, no hay paralelismo entre la acción *in vitro* de un medicamento y su efecto en vivo. La estreptomycin, ¿ cómo actúa? Lo ignoramos; pero

sí sabemos (CORPER y COHN (301) que si en un cobaya se inyectan 25.000 unidades de estreptomycin diariamente, durante ochenta y dos o noventa y un días, y después se inocula, a las veinticuatro horas, con un miligramo de bacilo de Koch humano y virulento, la duración de la vida de estos animales se prolonga en comparación con los testigos que no recibieron el antibiótico; y, sin embargo, conocemos que la estreptomycin sólo permanece en la sangre de cuatro a veinticuatro horas. Esto demuestra que el antibiótico no pudo actuar directamente sobre el *Mycobacterium* sino preparando el organismo a resistir mejor la enfermedad. Pero ignoramos porqué mecanismo.

El investigador se encuentra perplejo ante esta situación, pero con enormes posibilidades de estudio. Sólo el trabajo asiduo y la colaboración constante de equipos de estudiosos formados por biólogos, químicos, bacteriólogos y clínicos podrán desentrañar tanta incógnita. Los resultados logrados en los últimos años deben animarnos del más sano optimismo y esperar que Dios ilumine la mente de los hombres en su lucha contra esta terrible enfermedad.

Si nos dijeran que un poder extranjero causaba al año la muerte de más de 30.000 españoles y que en los hospitales yacían por su culpa muchos millares de compatriotas nuestros, bien seguro estoy que el Gobierno arbitraría el dinero que fuera necesario para combatir al enemigo. Al llamamiento que hiciese a nuestro patriotismo responderían cientos de millares de ciudadanos dispuestos a combatir hasta la muerte, y el espíritu heroico que produjo un Hernán Cortés y los Pizarros, figuras no superadas en la Historia, daría en nuestra época brillantes personalidades capaces de los más grandes sacrificios en holocausto del bien común.

Sustituid a la potencia extranjera por la tuberculosis y veréis que este azote que flagela el cuerpo de España tiene que ser combatido, al igual que otras enfermedades, por el espíritu heroico de un ejército de hombres de ciencia dotados de las mejores armas de combate, con las fuerzas de la investigación, en las que se alistarían, sin duda, ante un llamamiento adecuado, gran número de jóvenes deseos del sacrificio en aras de la Humanidad. Solamente es necesario que los poderes públicos hagan este llamamiento y aporten los medios de lucha para que, en compacta falange, se unan los esfuerzos pacientes de muchos soldados de la investigación, entre los que destacará, sin duda, alguno que merezca la Laureada por los éxitos que alcance, y entonces, como en los tiempos más brillantes de nuestra Historia, los españoles no solamente habremos engrandecido el nombre querido de nuestra Patria, sino que habremos contribuido al progreso de otros muchos pueblos, como nuestra obra civilizadora en América supo hacer en tiempos pretéritos.

BIBLIOGRAFIA

1. DOPTER y SACQUEPEE: Manual de Bacteriología. Traducción española. Barcelona, 1923.
2. Anuario Estadístico General de España. Madrid, 1947.
3. Véase GONZÁLEZ RIBAS: El Mundo de la Med., 51, 47; 1948.
4. Véase J. A. M. A., 136, 278, 1948.
5. Véase J. A. M. A., 124, 938, 1944.
6. LAÍN ENTRALGO: Conferencias dadas en la facultad de Medicina de Madrid.
7. ORIOL ANGUERA, J. y A.: Historia de la tuberculosis. Barcelona, 1944.
8. CASTIGLIONI: Historia de la Medicina. Traducción española. Barcelona, 1941.
9. CLAUDE BERNARD: Leçons de Physiologie Operatoire. Paris, 1879.
10. STEFAN ZWEIG: La curación por el espíritu. Traducción española. Barcelona, 1945.
11. JEANNEL: Formulario oficial y magistral. Traducción española de los doctores Gómez y Pamo. Madrid, 1872.
12. Véase Theo Malade. Semmelweis. El Salvador de las Madres. Traducción española. Madrid, 1943.
13. KOCH: Berl. klin. Wochs., 19, 221; 1882.
14. KOCH: Deut. méd. Wochs., 1890.
15. URGOITI y RODRÍGUEZ PÉREZ: Arch. Med. Cir. Esp., núm. 678; 1934.
16. USTVED: Brit. J. Tuberc., 40, 85; 1946.
17. FELDMAN: J. Roy. Inst. Pub. Health Hyg., 9, 267; 1946.
18. CARRACIDO: Cuestiones bioquímicas y farmacéuticas. Madrid, 1925.
19. UNGAR: Conferencia en la Soc. de Patología Inglesa, en 1 de enero de 1947.
20. Véase MATILLA: Manual de Microbiología médica. Barcelona, 1946.
21. CHOUCROUN: Science, 98, 327; 1943. 105, 46; 1947.
22. BOIVIN, MESROBENAU y NESTORESCU: Com. rend. Soc. Biol., 115, 306; 1934.
23. RAFFEL: Am. Rev. Tuberc., 54, 594; 1946.

24. GORTS y SABETAY: Comt. rend. Acad. Sci. París, 223, 433; 1946.
25. DIECKMANN y MOHR: Zbl. Bakt., 129, 185; 1933. LOEBEL y colabs.: J. Bact., 26, 167; 1933. NAKAMURA: Tohoku J. Exp. Med., 34, 231; 1938, etc.
26. BERNHEIM: J. Bact., 41, 387; 1941.
27. FERNÁNDEZ, O.: El Siglo Médico, 1924.
28. WEBER: Die Lungentuberkulose beim Erwachsenen, Klinik und Therapie für die Praxis. Viena, 1948.
29. GRACIÁN: Med. Clín., 11, 1; 1948.
30. VALLEJO DE SIMÓN: Medicina, 13, 311; 1945.
31. GASTÓN DE IRIARTE: Vacunoterapia antituberculosa experimental. Madrid, 1947.
32. GASTÓN DE IRIARTE: Comunicación personal.
33. Conferencia del 22 de enero de 1948 en Chicago. New Engl. J. Med., 228, 921; 1948.
34. Véase SAYÉ: Doctrina y práctica de la profilaxis de la tuberculosis. Buenos Aires, 1940.
35. WILSON: Brit. Med. J., II, 855; 1947.
36. SERGENT, PERROT y DONATIEN: Bull. Soc. Path. Exot., 9 de enero de 1937.
37. BRIDRE: Rev. Ins. Llorente, septiembre de 1926.
38. WEILL-HALLE y TURPIN: Bull. mem. Soc. Med. Hôp. París, 49, 1.589; 1945.
39. GÓMEZ ULLATE: Rev. San. Hig. Pub., 19, 769; 1945.
40. WALGREM: J. A. M. A., 91, 1.876; 1928.
41. ROSENTHAL: J. A. M. A., 136, 73; 1948.
42. MALMROS: Brit. Med. J., I, 1.129; 1948.
43. HYGGE: Acta Tuberc. Scand., 24, 1; 1947.
44. HERTZBERG: Véase J. A. M. A., 137, 321; 1948.
45. URIOSTE y CIVEIRA: Medicina, 15, 147; 1947.
46. GRASSET: Tubercle, 20, 397; 1939. Am. Rev. Tuberc., 49, 1; 1944.
47. SIVORI (CAMPANI y COSTANINI): La fisiología en la práctica médica. Traducción española. Barcelona, 1935.
48. KRAH y WITBSKY: Zeits. Immunitatsfor. exper. Therap., 66, 59; 1930.
49. FELDMAN y MOSES: Internat. J. Leprosy, 11, 36; 1943.
50. EHRLICH y HATA: Die experimentelle Chemotherapie der Spirillosen. Berlin, 1911. Existe traducción española de García del Real.
51. LEWIS y KRAUS: J. Exp. Med., 25, 441; 1917.
52. DE WITT: J. Infect. Dis., 13, 378; 1913.
53. CORPER: *Ibid.*, 13, 378; 1913.
54. FERNÁNDEZ O.: La evolución de la Química desde el VIII Congreso Internacional. Madrid, 1934.
55. DE WITT y LONG: The Chemistry of Tuberculosis. Baltimore, 1923.
56. KOCH y CORNET: Zeit. Hyg. Infekt., 5, 98; 1889.
57. DE WITT: J. Infect. Dis., 14, 498; 1914; y 28, 150; 1921. J. A. M. A., 75, 1.422; 1920.
58. DE WITT: J. Infect. Dis., 14, 498; 1914.
59. VON LINDEN: Cent. fur Bakt., 85, 136; 1920.
60. SELTER: Beit. Klin. Tuberk., 23, 201; 1912.
61. PERSCH: Med. u Chem., 4, 174; 1942.
62. SCHEDTLER y RÖDINGER: Beit. Klin. Tuberk., 96, 155; 1941.
63. CORPER: J. Infect. Dis., 15, 518; 1914.
64. GRENET y FROUIN: Bull. et Mem. Soc. med. Hôp. París, 44, 589; 1920.
65. FROUIN: Bull. Acad. Med. París., 83, 549; 1920.
66. SCHWARTZ y SCHOLZ: Ber. Deut. Chem. Gess., 74 B, 1.676; 1941.
67. LOEB: Arch. exp. Path. Pharmakol., 56, 321; 1907.
68. LOEB y MICHAUD: Biochem. Zeits., 3, 301; 1907.
69. WELLS y HENDENBURG: J. Infect. Dis., 11, 349; 1912.
70. HIRSCH: *Ibid.*, 15, 487; 1914.

71. STEENKEN y BALWIN: *Am. Rev. Tuberc.*, 35, 656; 1937.—STEINER, GREENE y KRAMER: *Ibid.*, 35, 640, 36, 222; 1937.
72. HART: *Brit. Med. J.*, 11, 805; 1946.
73. RAY y col.: *Indian Med Gaz.*, 76, 204; 1941.
74. KOCH: *Deut. Med. Wochrs.*, 16, 1.020; 1890.
75. SPIES y FELDT: *Ibid.*, 40, 579; 1912. *Münc. med. Wochrs.*, 61, 842, 1.455; 1914. *Berl. klin. Wochrs.*, 52, 365; 1915.
76. FELDT: *Die Goldbehandlung der Tuberkulose und Lepra*. Halle, 1924.
77. MOLLGAARD: *Chemotherapy of Tuberculosis*. Copenhagen, 1924.
78. FORDOS y GELTS: *Ann. Chim. Phys.*, 13, 394; 1845.
79. SECHER: *Traitement de la Tuberculose par la Sanocrisine*. Copenhagen, 1932.—Véase también SAYÉ: *Quimioterapia de la tuberculosis*. Barcelona, 1927.
80. BURRELL: *Recent Advances in Tuberculosis*. Londres, 1929.
81. CLARKE: *Brit. Med. J.*, 11, 576; 1929.
82. PICÓN: *Com. Ren. Ac. Sc.*, 199, 952; 1934. *Bull. Soc. Ch. France*, 2, 641; 1935. *J. Pharm. Chem.*, 21, 101 y 215; 1935.
83. LEBEAU y COURTOIS: *Traité de Pharmacie Chimique*. París, 1938.
84. SELIGSON: *Am. Rev. Tuberc.*, 43, 394; 1941.
85. WELLS y LONG: *Chemistry of Tuberculosis*, 2.^a edición. Baltimore, 1932.
86. DOMACK: *Deut. Med. Wochrs.*, 61, 950; 1935.
87. TREFOUËL, TREFOUËL NITTI y BOVET: *Cont. Red. Soc. Bio.*, 120, 756; 1935.
88. RICH y FOLLIS: *Bull. Johns. Hopkins Hosp.*, 62, 77; 1938.
89. FELDMAN y HINSHAW: *Am. Rev. Tuberc.*, 41, 732; 1940.
90. HOGGART, MARTIN y YOUNG: *Brit. J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 3, 153; 1948.
91. FROMM y WITTMANN: *Ber. Deutsch. Chem. Ges.*, 41, 2.264; 1908.
92. RIST BROCH y HAMON: *Ann. Inst. Pasteur*, 64, 203; 1940.
93. BUTTLE, STEPHENSON, SMITH, DEWING y FOSTER: *Lancet*, I, 1.331; 1937.
94. SMITH, EMMART y WESTFALL: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 74, 163; 1942.
95. FELDMAN, HINSHAW y MOSES: *A. J. Med. Sc.*, 207, 290; 1944.
96. FELDMAN y HINSHAW: *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 20, 161; 1945.
97. FELDMAN y col.: *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 15, 695; 1940; *An. Rev. Tuberc.*, 45, 303; 1942, y 46, 187, 1942, y 48, 256, 1943; y 51, 268, 1945.
98. SMITH y col.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 74, 163; 1942.
99. STEEKEN y col.: *Am. Rev. Tuberc.*, 48, 453; 1943.
100. COLLOMON: *Ibid.*, 47, 97; 1943.
101. MEDLER y SASANO: *Ibid.*, 47, 618; 1943.
102. ARMSTRONG y col.: *Ibid.*, 50, 160, 1944.
103. TYTLER: *Tubercle*, 25, 95; 1944.
104. DUCA: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 49, 460; 1942.
105. *American Trudeau Society*, *Am. Rev. Tuberc.*, 49, 391; 1944.
106. COLLOMON: *Am. Rev. Tuberc.*, 47, 97; 1943.
107. FELDMAN, HINSHAW y MORES: *Arch. Path.*, 36, 64; 1943.
108. GIROUXS Laval. *Med.*, 9, 788; 1944.
109. COLLOMON, KOLMER, RULEX y PAUL: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 63, 237; 1946.
110. ROUSSEAU, GIRONNE y RICHARD: *Laval. Med.*, 9, 780; 1944. *Edit. Am. Prif. Parm.*, 10, 106; 1944.
111. RAIZISS: *Science*, 98, 350; 1943.
112. BAMBAS: *Ast. 103 rd. Meeting. Am. Chem. Soc.*, 20 de abril de 1942.
113. FELDMAN, HINSHAW y MANN: *Am. Rev. Tuberc.*, 50, 418; 1944.
114. GRAY y HENRY: *Brit. Pat.*, 491, 265; 1936.
115. BRONWLEE, GREEN y WOODBINE: *Brit. J. Pharmacol.*, 3, 15; 1948.
116. BRONWLEE y KENNEDY: *Ibid.*, 3, 29 y 37; 1948.
117. SMITH, McCLOSKEY y JACHSON: *Am. Rev. Tuberc.*, 55, 301; 1947.
118. BAMBAS: *J. Am. Chem. Soc.*, 67, 668; 1945.

119. COLORADO IRIS, LEYVA y RAMÍREZ: Ref. Inst. Salud, Enferm. Trop. (Méjico), 5, 75; 1944.
120. FREEDLANDER y FRENCH: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 361; 1946.
121. BARRY, O'ROUKE y TWOMEYS: Nature, 160, 800; 1947.
122. BARRY, BELTON, CONALTY y TWOMEY: Nature, 162, 622; 1948.
123. FEISTONE, FRIEDMAN, ROTHLANF, KELLY y WILLIAMS: J. Pharmacol., 89, 153; 1947.
124. GRAEF, FREDEREICKSEN y BURGER: J. Org. Chem., 11, 257; 1945.
125. WILLSTAEDT y BORGARD: Svensk. Kem. Tid., 57, 254; 1945.
126. WILLSTAEDT: *Ibid.*, 56, 267; 1944.
127. MAYER: Rev. Medicale France, 3, 19; 1941.
128. BARGER, WILSON, BRINDLEY y BERNHEIM: J. Am. Chem. Soc., 67, 1,416; 1945.
129. FEISTONE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 153; 1946.
130. HOGGARTH y MARTIN: Brit. J. Pharmacol., 3, 146; 1948.
131. HOGGARTH y MARTIN: *Ibid.*, 3, 156; 1948.
132. HOGGARTH, MARTIN, PAIGE, SCOTT y YOUNG: *Ibid.*, 3, 160; 1948.
133. STOLL, BRACK y RENZ: *Experientia*, 3, 115; 1947.
134. CURD ROBERTSON: J. Chem. Soc., 59, 898; 1937.
135. EMMART: Am. Rev. Tuberc., 53, 83; 1946. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 65, 156; 1947.
136. WOODS: Brit. J. Exp. Path., 21, 74; 1940.
137. FILDES: *Lancet*, 1, 955; 1940.
138. *Nature*, 162, 356; 1948. (Resumen de la sesión celebrada en la Real Sociedad de Londres el 17 de junio de 1948.)
139. LIBERMAN, D.: De la bacteriostasis a la fisiopatología. Salvat Edit. Barcelona, 1947.
140. LEHMAN: *Lancet*, I, 14, 14 y 15; 1946.
141. DIECKMANN y MOHR: Zbl. Bakt., 129, 185; 1933.
142. LOEBEL, SHORR y RICHARDSON: J. Bact., 26, 167; 1933.
143. NAKAMURA: Tohoku J. Exp. Med., 34, 231; 1938.
144. BERHEIM: Science, 92, 204; 1940. J. Bact., 41, 387; 1941.
145. LEHMAN: Nord. Med., 33, 147; 1947.
146. YOUMANS: J. Bact., 54, 409; 1947.
147. YOUMANS: Quart. Bull., Northwestern Univ. Med. School., 20, 420; 1946.
148. FELDMAN y KARLSON: Proc. Staff. Meet. Mayo Clin., 22, 473; 1947.
149. FELDMAN: J. Roy. Inst. Pub. Health Hyg., 9, 267; 1946.
150. BRAY, RYMAN y THORPE: Nature, 162, 64; 1948.
151. KLYNE y NEWHOUSE: *Lancet*, II, 611; 16 de octubre de 1948.
152. WAY, SMITH, HOWIE, WEISS y SWANSON: J. Pharmacol. Exp. Therap., 93, 368; 1948.
153. DEMPEY y LOGG: *Lancet*, II, 871; 1947.
154. ERDEI: *Lancet*, II, 118; 1948.
155. BEILSTEIN: Handbuch der Organischen Chemie, 4.^a ed. Berlin, 1918-1943.
156. SEIDEL y BITNER: Ber. Deuts. Chem. Gers., 34, 4,353; 1901.
157. WAKSMAN: Microbial antagonisms and antibiotic substances. New York, 1945.
158. VUILLEMIN: Assoc. Franç. Ava. Sc., 2.^a parte, 525; 1885.
159. PASTEUR y JOUBERT: Com. Rend. Acad. Sc., 85, 101; 1877.
160. BURN: Chem. & Drug., 16 de octubre de 1948, pág. 514 (resumen de la conferencia pronunciada en Londres el 5 de octubre de 1948, ante la Sociedad Química Industrial).
161. DUBOS: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 40, 311; 1939. J. Exp. Med., 70, 1 y 249; 1939.
162. JÁUREGUI: Anales R. Acad. Farmacia, 10, 65; 1944. Farmacia Nueva, 11, 116; 1946.
163. BUSTINZA: "La penicilina y los antibióticos modernos". Madrid, 1945.
164. FLOREY: Brit. Med. J., II, 635; 1945.
165. FEHLEISEN: Cit. por Florey (164).

166. CANTANI: G. Int. Sc. Med., 7, 493; 1885.
 167. KLEIN: Am. J. Med. Sc., 106, 741; 1893.
 168. BOUCHARD: Compt. Rend. Ac. Sc., 108, 713; 1889.
 169. RAPPIN: Gaz. Med. Nantes, 958; 1912.
 170. VAUDREMER: Compt. Rend. Soc. Biol., 74, 278 y 752; 1913.
 171. KIMMELSTIEL: Münch. Med. Klin., 20, 419; 1924.
 172. SCHILLER: Zentbl. f. Bakt., 96, 54; 1925; y 103, 304; 1927.
 173. VAN CANNEYT: Compt. Rend. Soc. Biol., 95, 878; 1926.
 174. MACHADO: *Ibíd.*, 96, 484; 1927.
 175. ZORZOLI: An. Int. Carlo Forlanini, 4, 208 y 221; 1940.
 176. WAKSMAN y WOODRUFF: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 49, 207; 1942.
 177. FOSTER y WOODRUFF: *Ibíd.*, 57, 88; 1944.
 178. FELDMAN y HINSHAW: An. Rev. Tuberc., 52, 299; 1945.
 179. DALE: Brit. Med. J., II, 451; 1948. (Conferencia ante la Asociación Médica Británica el 2 de julio de 1948 en Cambridge.)
 180. WAKSMAN: J. A. M. A., 135, 478; 1947.
 181. BOWSER: Un. Pittsburg Bull., 39, 6; 1943.
 182. FONTES, MAGARAS, ARRIAGADA y THALES: Rev. Brasil. Méd., 1, 555; 1944.
 183. LANSÉN e HIRSCHMANN: Arch. Biochem., 4, 297; 1944.
 184. SALLE y JANN: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 60, 60; 1945.
 185. HIRSCHORN, BUCCA y THAYER: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 67, 429 y 432; 1948.
 186. MILLER y REKATE: Science, 100, 172; 1944.
 187. BERBER y GROSS: *Ibíd.*, 101, 616; 1945.
 188. SOLTYS: Nature, 154, 550; 1944.
 189. ASHESHOV y STRETLITZ: Science, 101, 119; 1945.
 190. HOGEBOON y CRAIG: J. Biol. Chem., 162, 303; 1946.
 191. BUSH, DICKINSON, WARD y ABERY: J. Pharmacol., 85, 237; 1945.
 192. KURUNG: Science, 102, 11; 1945.
 193. ILAND: J. Path. Bac., 58, 495; 1946.
 194. CARR: U. S. Nav. M. Bull., 46, 237; 1946.
 195. BOISSEVAIN: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 555; 1946.
 196. ARNSTEIN, COOK y LACEY: Nature, 157, 333; 1946.
 197. HOLLANDE: Compt. Rend. Acad. Sc., 221, 301; 1943.
 198. EHREMBERG, HESTRÖM, LÖFGREM y TANKMAN: Svenska farm. Teidskr., 50, 645; 1946. Svenska kem. tidskr., 58, 269; 1946.
 199. EHREMBERG, HESTRÖM, LÖFGREM y TANKMAN: *Ibíd.*, 58, 306; 1946.
 200. CALLOW y O'HART: Nature, 157, 334; 1946.
 201. JOHNSON: J. Bact., 51, 591; 1946.
 202. FOSTER y WOODRUFF: *Ibíd.*, 51, 363; 1946.
 203. HUGHES y KIERMAN: Nature, 159, 197; 1947.
 204. BERGSTRÖM, THEORELL y DAVIDE: Arch. Biochem., 10, 165; 1946.
 205. SCHATZ y WAKSMAN: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 57, 244; 1944.
 206. FLOREY, JENNINGS y SANDERS: Brit. J. Exp. Path., 26, 337; 1945.
 207. GAUSE: J. Bact., 51, 469; 1946.
 208. BRAZHNIKOVA: J. Bact., 51, 655; 1946.
 209. DUJARDIN BAUMETZ: Compt. Rend. Soc. Biol., 117, 1.178; 1943.
 210. MATTICK y HIRSCH: Nature, 154, 551, y 155, 797; 1945.
 211. EMMART: Conf. on antibiotics Research. Nat. Inst. of Health, Washington, 1947.
 212. KELNER y MARTIN: Proc. Soc. Exp. Biol., 63, 227; 1946.
 213. EHRLICH, BARTZ, SMITH, JOSLYN y BURKHOLDER: Science, 106, 417; 1947.
 214. YOUNG, YOUNG y OSBORNE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 67, 426; 1948. (Véase también editorial de New England J. A. Med., 239, 239; 1948.)
 215. COURTMONT, MOREL, PERROT, DENARD y SALAVILLE: Compt. Rend. Soc. Biol., 129, 749; 1937.
 216. RAO, RAO, NATAJARAN y VENKATARAMAN: Nature, 157, 441; 1946.

217. SAINT RAT, OLIVIER y CHOUTEAUR: *Compt. Rend. Acad. Sc.*, 221, 361; 1945.
 218. BARRY: *Nature*, 158, 131; 1946.
 219. SCHATZ, BURGIE y WAKSMAN: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 55, 66; 1944.
 220. SCHATZ y WAKSMAN: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 57, 244; 1944.
 221. YOUMANS: *Quart. Bull. Northwest Univ. Med. School*, 19, 207; 1945; y comunicación personal al doctor Feldman (*J. Roy. Ins. Pub. Health Hyg.*, 9, 343; 1946).
 222. FELDMAN y HINSHAW: *Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic*, 19, 593; 1944.
 223. FELDMAN, HINSHAW y MANN: *Am. Rev. Tuberc.*, 52, 269; 1945.
 224. SMITH y McCLOSKEY: *Pub. Health Rep.*, 60, 1.129; 1945.
 225. YOUMANS y McCARTER: *Am. Rev. Tuberc.*, 52, 432; 1945.
 226. MOLITOR, GRAESSE, KUNA, MUSHETT y SILBER: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 86, 151; 1946.
 227. ENGELS: *Chem. Eng. News*, 26, 1.284; 1948.
 228. BRINK, KUEHL, FLYNN, PECK, HOFFHINE, PAEL y FOLKES: *Science*, 102, 506; 1945.
 229. DENKEWALTER, COOK y SISHLER: *Science*, 102, 12; 1945.
 230. BRINK, KUEHL y FOLKES: *Ibid.*, 102, 506; 1945.
 231. DONOVICK, RAKE y FRIED: *J. Biol. Chem.*, 164, 170; 1946.
 232. HENRY, BESKMAN y HOUSEWRIGHT: *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 90, 42; 1947.
 233. SCHOEMBATH y CHANDLER: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 66, 493; 1947.
 234. REGNA y WARSSLE: *Citados en Am. Prof. Pharm.*, 12, 639; 1946.
 235. FRIED y TITUS: *J. Biol. Chem.*, 168, 391; 1947. *Ibid.*, 169, 393; 1947.
 236. RAKE, McKEE, PANSY y DONOVICK: *Proc. Soc. Biol. Med.*, 65, 107; 1947.
 237. EMERY y WALKER: *Nature*, 162, 525; 1948.
 238. Trudeau Society (Sección Médica de la Asociación Nacional de Tuberculosis). *Am. Rev. Tuberc.*, 49, 391; 1944.
 239. HINSHAW, PFUETZE y FELDMAN: *Am. Rev. Tuberc.*, 50, 52; 1944.
 240. HEAF, HURFORD, EISER y FRANKLIN: *Lancet*, I, 702; 1943.
 241. TYTLER y LAPP: *Brit. Med. J.*, II, 748; 1942.
 242. ROBIN: *Tubercle*, 26, 186; 1945.
 243. PETTER y PRENZLAU: *Am. Rev. Tuberc.*, 49, 309; 1944.
 244. DESMEULES, ROUSSEAU y GIROUX: *Laval Med.*, 9, 780; 1944.
 245. ALARCÓN y GARCÍA SALAZAR: *Gac. Méd. (Méjico)*, 75, 316; 1945.
 246. SWEANY: Véase Feldman (*J. Roy. Inst. Pub. Health Hyg.*, 9, 297; 1946).
 247. KETTELKAMP y FRIEDMAN: *Dis. Chest.*, 13, 23; 1947.
 248. BENSON y GOODMAN: *Am. Rev. Tuberc.*, 51, 463; 1945.
 249. CORPER y COHN: *J. A. M. A.*, 127, 1.043; 1945.
 250. HINSHAW y FELDMAN: *Proc. Staff. Meet. Mayo Clin.*, 19, 33; 1944.
 251. MILGRAN, LEVITT y UNNA: *Am. Rev. Tuberc.*, 73, 144; 1947.
 252. LINCOLN, STONE y HOFFMAN: *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 82, 56; 1948.
 253. BROWNLEE: *Lancet*, II, 131; 1948.
 254. ANDERSON y STRACHAN: *Ibid.*, II, 135; 1948.
 255. MADIGAN: *Ibid.*, II, 174; 1948.
 256. CLAY y CLAY: *Ibid.*, II, 180; 1948.
 257. LEHMAN: *Lancet*, I, 15; 1946.
 258. STEVERS: *Svenska Lak. tidning.*, 43, 2.041; 1946.
 259. VALENTÍN: *Ibid.*, 43, 247; 1946.
 260. EDEREI y SNELL: *Lancet*, I, 791, y II, 118; 1948.
 261. DEMPEY y LOGG: *Ibid.*, II, 871; 1947.
 262. LEHMAN: *Nord. Med.*, 33, 140; 1947.
 263. FELDMAN, KARLSON y HINSHAW: *Proc. Mayo Clinic*, 22, 473; 1947.
 264. HINSHAW y FELDMAN: *Proc. Mayo Clin.*, 20, 313; 1945. *J. A. M. A.*, 132, 778; 1946.

265. Council de Farmacia y Química de la Sociedad Americana de Medicina y Subcomité de la Estreptomina de la Sección de Terapéutica de la Sociedad Americana Trudeau. *J. A. M. A.*, 135, 634 y 641, del 8 de noviembre de 1948.
266. YOUMANS, WILLISTON, FELDMAN y HINSHAW: Proc. Staff. meet. Mayo Clin., 21, 126, 19.
267. YOUMANS y WILLISTON: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 131; 1946.
268. MILLER y BOHNHOFF: Science, 105, 620; 1947.
269. KUSHNICH, RANGLES, GRAY y BIRKELAND: *Ibid.*, 106, 587; 1947.
270. RAKE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 67, 249; 1948.
271. SMITH y McCLOSKEY: Pub. Health. Rep., 60, 1.129; 1945.
272. UNGAR: Nature, 152, 245; 1943.
273. SOO-HOO y SCHNITZER: Arch. Biochem., 5, 99; 1944.
274. SULTAN, JENKINS y CUTTING: Arch. Int. Med., 76, 161; 1945.
275. SMITH y McCLOSKEY: Pub. Health Rep., 60, 1.129; 1945. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 62, 157; 1946; y 64, 261; 1947.
276. COLLOMON, KOLMER, RULF y PAUL: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 237; 1946.
277. BROWNLEE y KENNEDY: Brit. J. Pharmacol., 3, 37; 1948.
278. VENNESLANS, EBERT y BOCH: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 68, 250; 1948.
279. KOLMER: Am. J. Med. Sc., 215, 136; 1948.
280. MADIGAN, SWIFT y BROWNLEE: Lancet, II, 897; 1947.
281. DUBLIN: *J. A. M. A.*, 136, 278; 1948.
282. CORPER y COHN: *J. A. M. A.*, 137, 357; 1948.
283. DUCA, WILLIAMS y SCUDIN: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 67, 159; 1948.
284. DUBOS: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 58, 361; 1945. *J. Exp. Med.*, 83, 409; 1946.
285. DUBOS: *Experientia*, 3, 45; 1947.
286. FELDMAN: *J. Roy. Inst. pub. Health Hyg.*, 9, 267; 1946.
287. ANDERSON y NEMAN: *J. Biol. Chem.*, 101, 773, y 103, 197; 1933.
288. ILAND: Nature, 161, 1.010; 1948.
289. SPLENDOVE, CUMMING, FACKLER y MICHAEL: Pub. Health Rep. Washington, 63, 1.177; 1948.
290. YOUMANS y WILLISTON: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 131; 1946.
291. SHILLER: *Central f. Bakt. (Alti)*, 96, 54; 1925; y 103, 304; 1927.
292. BARGLOWKI: *Am. Rev. Tuberc.*, 54, 393; 1946.
293. FEINSTONE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 63, 153; 1946.
294. *J. A. M. A.*, 130, 812; 1946.
295. BOITEAU y SARACINO: *Med. franc.*, 8, 251; 1945.
296. WAKSMAN y JOHNSTONE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 65, 294; 1947.
297. FAVOUR: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 65, 269; 1947.
298. CHASE: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 59, 134; 1945.
299. HOYT y GATTSHALL: Pub. Health Rep., 62, 994; 1947.
300. STAVITSKY: Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 67, 225; 1948.
301. CORPER y COHN: *J. A. M. A.*, 137, 357; 1948.