

Descobertas simultâneas na Medicina do século XX (3ª parte) – Os primeiros tuberculostáticos

Simultaneous discoveries and the Medicine of the 20th century (part III) – The first tuberculostatics

AJ Barros Veloso*

Resumo

O autor faz uma descrição detalhada dos acontecimentos que deram origem à descoberta da estreptomycina, do PAS e da isoniazida, entre 1944 e 1952, e à transformação verificada depois disso no panorama da tuberculose.

Palavras chave: tuberculose, estreptomycina, PAS, isoniazida, Waksman, Schatz, Lehmann, Domagk, descobertas simultâneas.

Abstract

The author describes with great detail the chain of events that led to the discovery of streptomycin, PAS and isoniazid between 1944 and 1952 and to the posterior changes in the area of tuberculosis.

Key words: tuberculosis, estreptomycin, PAS, isoniazid, Waksman, Schatz, Lehmann, simultaneous discoveries.

Após a descoberta da penicilina em 1941, muitos cientistas se interrogaram sobre a possível existência, na natureza, de microrganismos produtores de substâncias que pudessem ser activas, não apenas contra as infecções por gram-positivos, mas também contra outras infecções como a tuberculose, as bruceloses, as salmoneloses e as sépsis por gram-negativos. Uma vez que a penicilina tinha resultado de um acaso feliz em que um fungo pouco vulgar contaminara as culturas estafilocócicas de um desconhecido bacteriologista do St. Mary's Hospital, nada mais lógico do que procurar, à sorte, outros fungos e outras bactérias, na esperança de que, inesperadamente, surgisse um fenómeno de antibiose semelhante.

Num pólo oposto a este, a descoberta do *Prontosil*, em 1935, tinha mostrado de forma clara que a investigação persistente de longas listas de substâncias obtidas por síntese química poderia conduzir à identificação accidental de medicamentos eficazes no controlo das infecções.

Contudo, antes disto acontecer, alguns investigadores tinham já optado por uma via mais racional, partindo de hipóteses teóricas que procuravam con-

firmar experimentalmente. Quase todos eles estavam ligados à microbiologia do solo, como é o caso do francês René Dubos que, tendo emigrado para os EUA, começou por trabalhar com Seldam Waksman antes de se transferir para a Fundação Rockefeller em 1927. Dubos estava convencido de que nos solos existia uma permanente competição entre microrganismos, de tal maneira que alguns deles produziam substâncias químicas capazes de destruir as estruturas de outros com quem partilhavam o mesmo meio biológico. Uma vez que a cápsula do pneumococo era constituída por um polissacarido, a sua primeira investigação foi orientada para a pesquisa de um microrganismo que possuísse a propriedade de decompor polissacaridos. Pensava que desta maneira poderia ser encontrada a solução para o tratamento das infecções pneumocócicas. Foi assim que, em 1929, descobriu no solo de frutos silvestres em decomposição um bacilo com essas propriedades (*Cranberry bog bacillus*). E, continuando a desenvolver esta teoria, conseguiu isolar, em 1939, uma substância activa contra o estafilococo, a *gramicina*, a partir de um bacilo até então desconhecido, o *Bacillus brevis*.

Estes trabalhos pioneiros surgiram numa altura em que na Europa se desenrolavam os acontecimentos que, por caminhos bem diferentes, iriam levar à descoberta da sulfonamida e da penicilina. Os resultados das pesquisas de Dubos, ou porque exigiam técnicas muito complexas ou porque conduziram a substâncias

*Médico

Recebido para publicação a 03.10.2007

Aceite para publicação a 06.12.2007

demasiado tóxicas, acabariam por ser ultrapassadas. Mas as ideias e os métodos então postos em prática, iriam em breve abrir caminho a novos progressos na terapêutica das doenças infecciosas.

A tuberculose era, na altura, uma doença com elevada mortalidade, para a qual não existiam soluções terapêuticas eficazes. Os clínicos e bacteriologistas que conheciam de perto os efeitos devastadores da doença, colocavam a fronteira das suas investigações na descoberta de substâncias capazes de destruir o bacilo no organismo do hospedeiro com um mínimo de efeitos tóxicos. O resultado da actividade científica então desenvolvida traduziu-se no aparecimento, em cerca de oito anos, dos três primeiros tuberculostáticos: a estreptomomicina (1944), o PAS (1946) e a isoniazida (1952).

Waksman, Schatz e a estreptomomicina

Nascido na cidade ucraniana de Novaia-Priluka, Zolman Waksman emigrou para os EUA em 1910. Tinha então 22 anos e, por sugestão de um familiar, também emigrante russo, resolveu candidatar-se a um lugar no Departamento de Agricultura da Universidade de Rutgers, em Brunswick (New Jersey). Aí, foi entrevistado pelo professor de “microbiologia do solo”, que lhe ofereceu emprego e o encorajou a licenciar-se na área da agricultura.

Waskman licenciou-se em 1915, mudou o nome próprio de “Zolman” para “Selman” e naturalizou-se americano. No ano seguinte defendeu tese de mestrado e, depois de passar pelo Departamento de Agricultura de Washington e de se doutorar em bioquímica na Universidade de Berkeley, regressou a Rutgers para ensinar “microbiologia do solo”.

Durante estes anos tinha adquirido grande experiência nas técnicas da bacteriologia, a par de conhecimentos acerca dos processos químicos subjacentes à biologia das bactérias. Mas, além disso, tinha ficado fascinado com a enorme variedade de microrganismos presentes numa simples amostra de solo. Muitos desses microrganismos, desconhecidos até então, intrigavam-no porque, sendo formados por miríades de segmentos semelhantes ao coral, como é típico dos fungos, possuíam características que os situavam entre os fungos e as bactérias: eram os *Actinomyces*.

Em 1937, Waksman publicou um volume de 900 páginas intitulado *Principles of Soil Microbiology*. Nessa altura era já considerado uma autoridade mundial na sua especialidade e atraía a Rutgers jovens investiga-

dores dos EUA e da Europa, entre os quais, como já foi referido, André Dubos, com o qual nunca deixou de manter contactos frequentes.

Waksman não tinha formação médica e o seu departamento não contactava habitualmente com investigadores médicos. Talvez isto explique que o seu interesse inicial se tenha dirigido exclusivamente para estudar as bactérias nos seus aspectos biológicos e não como causadoras de doenças. Este facto não deixa de ser surpreendente se nos lembrarmos que os resultados de um trabalho realizado por um seu colaborador, a pedido da Sociedade Americana de Tuberculose e publicado em 1934, revelara, sem margem para dúvidas, que o bacilo de Koch era destruído quando aos solos se adicionavam fungos e que isto era particularmente evidente nos solos estrumados. A verdade é que nem a Sociedade que patrocinara o trabalho, nem Waksman, nem Dubos, que certamente conhecia estes resultados, deram seguimento a uma investigação que mais tarde se revelaria crucial.

Mas, em 1939, Waksman iria dar um novo rumo às suas pesquisas. A descoberta da *gramicida* feita por Dubos e as frequentes discussões que mantinha com ele, tinham-no decidido, finalmente, a procurar substâncias produzidas por microrganismos do solo que pudessem ter utilização terapêutica.

Começou então por isolar, a partir de um actinomicetes, uma droga a que chamou *actinomicina*, que possuía forte acção anti-bacteriana mas que foi abandonada por ser altamente tóxica. A seguir, descobriu a *estreptotricina*, extraída do *Streptomyces lavendulae*, que era activa contra gram-positivos e gram-negativos mas cujos efeitos renais tardios tornavam impossível a sua utilização no homem. Apesar destes insucessos, Waksman não desistiu: estava agora firmemente convencido de que a solução para a cura da tuberculose viria dos *antibióticos* -- termo que ele próprio introduziu para traduzir o efeito deletério de um organismo sobre outro, na sequência do conceito de *antibiose* que se vulgarizara a partir dos trabalhos de Pasteur.

Em Junho de 1943, Waksman foi procurado por Albert Schatz, que tinha sido seu aluno em Rutgers e que pretendia defender uma tese sobre microbiologia do solo. Na altura, Waksman estava mais interessado em continuar a investigação sobre antibióticos e propôs-lhe, como alternativa, um doutoramento nessa área. Schatz, que necessitava urgentemente de emprego, acabou por aceitar a sugestão. Dirigiu então à Universidade uma proposta de tese de douto-

ramento cujo objectivo era a pesquisa de antibióticos activos contra as bactérias gram-negativas e contra as micobactérias.

Apenas com 23 anos, dotado de uma inteligência brilhante e de uma excepcional capacidade de trabalho, Schatz retomou, em Junho de 1943, as pesquisas que estavam em curso em Rutgers mas orientou-as exclusivamente para os actinomices, pondo de lado todos os outros microrganismos.

O seu objectivo era pesquisar o poder inibitório do actinomices sobre o crescimento das bactérias patogénicas. Para isso seleccionava actinomices provenientes de diversos solos e semeava-os num sulco ao longo do diâmetro das placas de cultura. Passados períodos de tempo variáveis, fazia sementeiras das bactérias que pretendia testar, em sulcos perpendiculares à cultura do actinomices e observava depois se havia ou não uma zona de inibição no crescimento das colónias.

Não se sabe ao certo quantas variedades de actinomices terão sido testadas, porque Schatz tinha o hábito de registar apenas os casos que se revelavam duvidosos. Mas foram provavelmente alguns milhares e, apesar dos resultados negativos, o jovem investigador manteve esta actividade de forma obsessiva, tão convencido estava de que acabaria por encontrar algo de importante.

Em Outubro de 1943, ou seja, três meses e meio depois de iniciar estas pesquisas, repetiu o mesmo procedimento utilizando duas colónias de *Streptomyces griseus* (Waksman, entretanto, tinha proposto a alteração do nome *Actinomyces* para *Streptomyces*). Verificou que ambas revelavam um claro efeito inibidor em relação não apenas às bactérias patogénicas gram-positivas, como também em relação às bactérias gram-negativas. Concluiu, então, que esse efeito deveria resultar da acção de uma substância a que foi dado o nome de *estreptomycina*. Depois disso repetiu a experiência com o bacilo de Koch e verificou que o novo *antibiótico* revelava igualmente um forte efeito inibidor em relação ao bacilo, mesmo quando usado em altas diluições. Comunicou estes resultados a Waksman que os recebeu com alguma reserva e bastante incomodidade, ao perceber que estava a ser ultrapassado por um jovem assistente que em pouco mais de três meses conseguira aquilo que ele procurava há vários anos: uma substância activa contra o bacilo de Koch.

Por essa altura, Waksman tinha sido procurado por William Feldman, cuja competência na área da

tuberculose era conhecida. Licenciado em veterinária, tinha-se notabilizado no estudo da tuberculose bovina e aviária e estava ligado profissionalmente à Mayo Clinic. Aí tinha encontrado um especialista em pneumologia, H. Corwin Hinshaw, com quem iniciou uma colaboração para testar novas terapêuticas para a tuberculose. Foi assim que, durante algum tempo, ensaiaram em animais e no homem, moléculas derivadas da sulfonamida, tais como o Promin e o Promizol. Feldman, que conhecia o trabalho que estava a ser realizado pela equipa de Waksman mas que nada sabia ainda sobre a *estreptomycina*, vinha oferecer a experiência que acumulara nos ensaios da Mayo Clinic propondo-se avaliar a eficácia de novos antibióticos que revelassem actividade contra a tuberculose.

Só um mês depois da visita de Feldman foi publicado o artigo "*Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against Gram-positive and Gram-negative bacteria*",¹ assinado por Albert Schatz e Seldam Waksman. Nem no título nem no texto do artigo havia qualquer referência à tuberculose, o que não pode deixar de surpreender. Contudo, numa tábua de resultados estavam incluídas as palavras *M. Tuberculosis* acompanhadas de dados que mostravam o efeito bacteriostático da estreptomycina em relação ao bacilo de Koch. Foi quanto bastou para que Feldman e Hinshaw, entretanto convidados por Waksman para um ensaio cooperativo, solicitassem o fornecimento de quantidades de estreptomycina que permitissem iniciar experiências em animais.

O primeiro ensaio teve início a 27 de Abril de 1944 com apenas 10 gramas de estreptomycina divididos em lotes para serem administrados a quatro cobaias infectadas com tuberculose.² Após 55 dias a quantidade de estreptomycina tinha-se esgotado mas as autópsias dos animais revelaram que as lesões tuberculosas estavam curadas enquanto em oito cobaias de um grupo controlo havia lesões disseminadas e com carácter necrosante. Além disso, a estreptomycina parecia não ter provocado efeitos secundários significativos em nenhum dos animais tratados.

Perante este extraordinário resultado, Feldman e Hinshaw queriam continuar as experiências mas a quantidade de estreptomycina necessária estava muito para além das possibilidades do modesto laboratório de Schatz. Foi então feito um contacto com a Merck & Co. e, após difíceis negociações, o próprio Director, Geoge Merck, deu luz verde à participação no projecto.

Prosseguiram então as experiências noutros grupos de cobaias, com resultados semelhantes aos verificados anteriormente. Parecia assim demonstrado o efeito inibidor da estreptomina sobre o bacilo de Koch, pelo que se justificava avançar rapidamente para os ensaios em tuberculose humana.

Os dois primeiros casos não foram particularmente felizes, pois ambos os doentes faleceram: um deles encontrava-se já numa situação terminal; o outro foi vitimado por uma embolia pulmonar. Apesar de tudo, a melhoria verificada durante a administração de estreptomina tinha sido fortemente sugestiva de um efeito terapêutico favorável.

Os dois casos seguintes iriam revelar resultados surpreendentes. No primeiro caso – uma jovem de 21 anos que sofria de tuberculose pulmonar progressiva e que já fora submetida a toracoplastia – a administração de estreptomina, entre Novembro de 1944 e Abril de 1945, apesar de várias vezes interrompida por falta de fornecimento de droga, conduziu a uma acentuada melhoria clínica. É certo que as baciloscopias se mantiveram positivas, mas, mesmo assim, foi possível fazer a ressecção cirúrgica da lesão residual e a doente retomou depois disso a vida activa, casou e teve três filhos.

No segundo caso tratava-se de uma criança com um ano de idade que sofria de uma situação habitualmente fatal: meningite tuberculosa. Estava-se em Maio de 1945 e a administração intramuscular e intratecal de estreptomina iria conduzir à cura completa após um ano de tratamento. Este foi o primeiro de uma série de casos que ficaram conhecidos pelo nome de *streptomycin babies*.

Em Setembro de 1945, Feldman e Hinshaw publicaram a primeira série de 34 doentes tuberculosos tratados com estreptomina.¹ Os resultados mostravam-se muito favoráveis mas não eram, de forma alguma, conclusivos. Em 1946, uma outra série com 75 doentes revelou um facto surpreendente: a melhoria clínica de 4 casos de tuberculose miliar com meningite.²

Os resultados eram, sem dúvida, animadores mas não bastavam para demonstrar a eficácia do novo medicamento. A tuberculose é uma doença crónica, com uma evolução variável e imprevisível, que por vezes melhora ou evolui para a cura de forma espontânea. A avaliação dos resultados terapêuticos exigia, por isso, a aplicação de metodologias rigorosas, para evitar a repetição do que acontecera com os saís de

ouro que tinham sido usados no tratamento da tuberculose durante 15 anos até se demonstrar a sua total ineficácia.

A verdade é que os ensaios realizados por Feldman e Hinshaw não incluíam a comparação com grupos controlo, pelo que a interpretação dos resultados levantava sérias dúvidas. Além disso, à medida que a procura de estreptomina nos EUA aumentava e que os doentes sabiam que podiam ter acesso ao medicamento sem serem integrados em programas de investigação, a hipótese de realizar ensaios controlados tornava-se cada vez mais improvável.

O *Medical Research Council* foi então encarregado pelo governo britânico de realizar um ensaio sobre o efeito da estreptomina na tuberculose pulmonar. Orientado por Austin Bradford Hill, professor de estatística, este ensaio constituiu um marco decisivo na história da investigação clínica.¹ Tratou-se de um estudo comparativo cujas condições de inclusão eram as seguintes: doentes com idades entre os 15 e os 25 anos, presença de lesões pulmonares bilaterais recentes, baciloscopias positivas e ausência de indicação de colapsoterapia. Constituíram-se assim dois grupos relativamente homogêneos, um dos quais tratado apenas com repouso e o outro com repouso e estreptomina, sendo a distribuição dos doentes sido feita, pela primeira vez, com recurso à “randomização”. Os problemas éticos que se levantaram – por serem privados dos possíveis benefícios da estreptomina todos os doentes do grupo controlo –, foram justificados, por um lado, pelo facto destes doentes continuarem a fazer repouso, que era, até à data, a única terapêutica indicada naquele tipo de lesões e, por outro lado, pela quantidade limitada de estreptomina disponível – um lote de 50 quilos da produção americana cedida ao governo inglês, com o qual nunca seria possível dar resposta a toda a procura.

Os resultados ao fim de seis meses demonstraram pela primeira vez, e sem sombra de dúvida, a eficácia da estreptomina no tratamento de lesões pulmonares tuberculosas. Mas a forma como o ensaio tinha sido desenhado iria permitir a reavaliação dos resultados três anos mais tarde. Foi então que surgiu aquilo que alguns já suspeitavam: ao fim desse período, a mortalidade dos doentes tratados com estreptomina e repouso era praticamente igual à do grupo tratado apenas com repouso. Estes dados vinham revelar que no decurso da terapêutica, obrigatoriamente longa face às características da doença, o bacilo de Koch ia

adquirindo resistências ao antibiótico.

Não parecia haver dúvidas de que a descoberta da estreptomicina tinha sido o primeiro avanço importante na história do tratamento da tuberculose. Mas, o já referido aparecimento de resistências, em breve criaria uma sensação de frustração face às expectativas iniciais. Ia ser necessário esperar algum tempo até que estas dificuldades fossem ultrapassadas e que novas soluções permitissem vencer a difícil batalha travada contra o bacilo de Koch.

Recorde-se que em Portugal a incidência de tuberculose era, nessa altura, uma das mais altas da Europa, sendo responsável pela morte de cerca de 15 000 pessoas por ano. Não admira, por isso, que a descoberta da estreptomicina tenha sido seguida com interesse no meio médico português. Neste contexto, é oportuno assinalar que, no princípio de 1948, um grupo de tisiologistas da Estância Sanatorial do Caramulo, liderados por Manuel Tapia, publicou a descrição clínica e radiológica de uma primeira série de 27 tuberculosos tratados com estreptomicina no decurso de 1947.¹ A esta seguiu-se, alguns meses mais tarde, uma outra série de 200 casos.¹ Estes trabalhos, tendo surgido pouco tempo antes de ser divulgado o ensaio já citado do Medical Research Council, chegavam a conclusões muito semelhantes às de Feldman e Hirshaw, mostrando de forma clara a eficácia da estreptomicina na tuberculose mas assinalando uma série de limitações e de dúvidas. Apesar de todos os sinais positivos, para Tapia e colaboradores o problema da tuberculose não estava definitivamente resolvido: havia ainda “*um longo caminho a percorrer*”.

Lehmann e o ácido para-aminosalicílico (PAS)

Enquanto nos EUA decorriam os primeiros ensaios com a estreptomicina, outras investigações estavam já a ser realizadas na Europa. Neste contexto, Jorgen Lehmann foi um dos cientistas que mais merece ser destacado.

Nascido no ano de 1898 em Copenhaga, Lehmann licenciou-se em medicina na Universidade de Lund onde, em 1929, defendeu tese sobre um tema relacionado com a química dos enzimas. Depois de fazer um estágio de 18 meses na Fundação Rockefeller, regressou à Dinamarca para ocupar o lugar de professor de bioquímica da Universidade de Aarhus. Foi aí que começou a dar nas vistas, ao investigar e resolver de

forma brilhante a situação de uma doente com graves carências vitamínicas do complexo B. A solução deste caso iria também estar na origem da sua colaboração com o Laboratório Ferrosan, de Malmö, cujo apoio viria a revelar-se mais tarde muito importante para a sua actividade científica.

Em 1939, insatisfeito com as condições que lhe eram proporcionadas em Aarhus, aceitou o lugar de Chefe de Patologia Química no Hospital Sahlgren, em Gotenburgo. Foi nessa altura que teve conhecimento de duas descobertas que iriam despertar a sua curiosidade: as hemorragias das galinhas alimentadas com dietas em que estava ausente uma substância, a vitamina K, e a doença hemorrágica provocada no gado pela ingestão do trevo-de-cheiro (*Melilotus elegans*).

Dotado de grande imaginação, Lehmann levantou a hipótese da existência, no trevo-de-cheiro, de uma substância tóxica capaz de reduzir a coagulabilidade do sangue e que poderia, por isso, ser utilizada na terapêutica das situações tromboembólicas. Mas o seu interesse por este assunto aumentou quando soube que essa substância, a *cumarina*, tinha já sido identificada e que a sua estrutura química era, curiosamente, muito semelhante à da vitamina K.

Lehmann conhecia bem o princípio da “inibição competitiva” segundo a qual um composto, quimicamente semelhante a um componente biológico, pode ocupar o seu lugar no processo metabólico e bloquear a sua actividade. O que aconteceria se a cumarina fosse introduzida no organismo? Iria ocupar a “fechadura” biológica da vitamina K impedindo-a de produzir protrombina?

Enquanto pensava nesta e noutras questões chegaram-lhe, do outro lado do Atlântico, notícias alarmantes: o prof. Karl Link, em Madison, estava já a pesquisar a actividade anticoagulante do trevo-de-cheiro. Não havia, pois, tempo a perder. Por isso, em Setembro de 1940 Lehmann deu início às primeiras experiências em animais que confirmaram aquilo que já esperava: a administração de cumarina prolongava o tempo de hemorragia.

Impunha-se agora passar à fase seguinte, ou seja, ensaiar a cumarina em doentes com fenómenos tromboembólicos. Lehmann, para não perder tempo, decidiu utilizar-se a si próprio como cobaia: autoinjectou-se com doses crescentes de cumarina até obter um prolongamento do tempo de hemorragia que lhe permitisse calcular de forma grosseira as doses terapêuticas apropriadas. Só depois disso de-

cidou administrar cumarina a uma doente com uma flebotrombose do pós-operatório e verificou que ao terceiro dia a dor e o edema tinham desaparecido. Lehmann iria depois obter resultados semelhantes noutras doentes da unidade de partos, confirmando assim a eficácia das cumarinas no tratamento dos fenómenos tromboembólicos.

Pode dizer-se que Lehmann, na Suécia, e Link, nos EUA, acabariam por fazer uma “descoberta simultânea”, entre muitas outras em que a História da Medicina é pródiga. Mas para Lehmann este caso iria ter uma importância muito especial: o estudo do princípio da “inibição competitiva” entre a cumarina e a vitamina K serviria de ponto de partida e de inspiração para um outro projecto, entretanto adiado, que iria culminar na descoberta do PAS.

Tudo começou quando Frederick Bernheim, farmacologista e bioquímico da universidade de Durham, que Lehmann conheceu na Fundação Rockefeller, lhe enviou um artigo de uma página intitulado “O efeito do salicilato na captação de oxigénio pelo bacilo tuberculoso”, no qual parecia demonstrado que a aspirina não só era utilizada pelo bacilo de Koch, como possuía uma acção estimulante do seu metabolismo. Posteriormente, num segundo artigo, Bernheim descrevia as tentativas feitas para bloquear o metabolismo do bacilo utilizando variantes químicas da aspirina, numa clara aplicação do princípio da “inibição competitiva”. Lehmann, mais do que ninguém estava preparado para compreender esta mensagem e não tardou a colocar a si próprio as perguntas que se impunham: a solução para a cura da tuberculose estaria numa substância tão corriqueira e modesta como a aspirina? Alterações introduzidas na molécula de aspirina poderiam ter um efeito bloqueador sobre o metabolismo do bacilo?

Em Março de 1943 Lehmann propôs ao laboratório Ferrosan o fabrico do sal *para-amino* da aspirina que, pensava ele, poderia possuir um efeito anti-tuberculoso. O que é curioso é que esta ideia não resultava de nenhum trabalho experimental. Baseava-se apenas numa dedução brilhante e num raciocínio aparentemente simples: se a sulfonamida possuía um grupo *amina* ligado ao carbono na posição *para* – aparentemente responsável pela sua acção bacteriostática –, a introdução de um radical *amina* ligado igualmente ao carbono na posição *para* da molécula de aspirina, poderia ter um efeito semelhante. Nascia assim a ideia do ácido *para-aminossalicílico* (PAS).

O laboratório Ferrosan estava pouco receptivo a estas aventuras. Nos anos 30 tivera prejuízos de vulto ao envolver-se na investigação e produção de Sano-crisina, um sal de ouro recomendado no tratamento da tuberculose que acabaria por ser abandonado. Mas Lehmann não estava disposto a desistir e conquistou o apoio de um químico brilhante, Karl Rosdahl, que em Dezembro de 1943, conseguiu, depois de um trabalho que se revelou extremamente complexo, produzir os primeiros 13 gramas do composto.

Em Janeiro de 1944 foram realizados os primeiros testes *in vitro* que revelavam um nítido efeito inibitório do PAS, sobre o crescimento das colónias de bacilo de Koch. Entretanto, os testes de toxicidade feitos em ratos e em cobaias, permitiram verificar que o medicamento, administrado quer por via oral quer parentérica, não produzia efeitos secundários significativos.

Foi depois disso que Lehmann, ao mesmo tempo que decorriam experiências em animais infectados, deu início aos primeiros ensaios clínicos em tuberculosos. Começou por utilizar o PAS em aplicação tópica para tratar abscessos tuberculosos secundários a toracoplastias, tendo conseguido a cura das lesões alguns meses depois. Finalmente, a partir de Março de 1944, em colaboração com um clínico experimentado, Gylf Vallentin, iniciou a administração oral de PAS em 20 doentes com várias formas de tuberculose, todos eles internados no Sanatório Renstroemska, em Gotenburgo.

A 5 de Fevereiro de 1946 surgiu no *Lancet* um artigo, de apenas uma página, intitulado “*Para-aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis*”.¹ Num breve relatório preliminar, Lehmann concluía que era cedo para tirar conclusões, mas considerava que os resultados obtidos eram já francamente animadores. Em vários doentes tratados com PAS por via oral tinha-se registado uma descida da temperatura, uma melhoria do estado geral e uma baixa da velocidade de sedimentação durante os períodos de administração do medicamento, sem que surgissem, mesmo com doses elevadas, os efeitos secundários típicos dos salicilatos. O artigo continha informação muito escassa e era ilustrado apenas com duas breves notas clínicas: uma mulher de 24 anos com tuberculose pulmonar extensa e um homem de 35 anos com derrames pleurais bilaterais.

Note-se que a síntese do PAS tinha sido realizada precisamente na mesma altura em que Albert Shtatz,

nos EUA, descobrira a estreptomicina, e a sua primeira utilização num doente tivera início exactamente um mês antes do primeiro caso de tuberculose ser tratado por Feldmann e Hinshaw na Clínica Mayo. Mas as hesitações de Lehmann quanto à interpretação dos primeiros resultados atrasou a publicação do artigo no *Lancet*, pelo que a descoberta do PAS, apesar de simultânea com a da estreptomicina, acabou por surgir aos olhos de todos como tendo acontecido dois anos mais tarde.

Durante o *Nordic Physicians Meeting* de 1946, Lehmann e Vallentin apresentaram as primeiras séries de doentes tuberculosos tratados com PAS, mas a reacção da assistência não foi nada favorável. As críticas eram sobretudo dirigidas ao facto de os ensaios não serem controlados, além de que poucos congressistas estavam preparados para aceitar que um simples derivado da aspirina pudesse ser a solução para a terapêutica da tuberculose. Assim, apesar dos múltiplos pedidos de PAS por parte de diversas instituições de saúde e das mensagens de gratidão dirigidas a Lehmann por tuberculosos que se consideravam curados pela nova droga, a situação continuava confusa nos finais de 1946.

Nessa altura, um médico sueco, Bo Carstensen, decidiu fazer um ensaio com um grupo relativamente homogéneo de 22 doentes, cujos resultados iriam convencer alguns cépticos: o PAS revelava-se tão eficaz como a estreptomicina se revelara na sua fase inicial, embora, com o tempo, desse também origem a resistências bacilares.

Foi então que surgiu o segundo estudo decisivo, realizado pelo *British Medical Council*.¹ Num ensaio mais uma vez dirigido por Bradford Hill e iniciado em 1948, foram comparados os resultados de três grupos de doentes: um deles tratado com PAS, outro com estreptomicina e um terceiro com as duas drogas. Um ano depois, e muito antes do ensaio chegar ao fim, a Comissão tomou a decisão, até aí sem precedentes, de divulgar um relatório preliminar, por existirem já provas inequívocas de que “*a combinação de PAS com a estreptomicina reduzia consideravelmente o risco do aparecimento de estirpes resistentes do bacilo tuberculoso*”.

Verificou-se também que, com a associação das duas drogas, a taxa de sobrevivência dos tuberculosos era superior a 80%, o que constituía, sem dúvida, um notável progresso. Contudo, a luta contra a tuberculose não iria ficar por aqui.

Três laboratórios para a isoniazida

Ficou a dever-se a Gerhrard Domagk a descoberta, em 1935, do *Prontosil*, primeira substância a mostrar eficácia no tratamento das infecções por microrganismos gram-positivos. Mas não foi preciso esperar muito tempo para se perceber que não era o *Prontosil* o responsável pelo efeito bacteriostático, mas sim uma fracção da sua molécula, a sulfonamida, que já fora, aliás, patenteada alguns anos antes.

A partir dessa altura entraram em acção os químicos, que procuraram manipular a sulfonamida, permutando elementos e introduzindo novos radicais com o objectivo de lhe aumentar a eficácia e lhe alargar o espectro de acção. Surgiram, assim, várias drogas, como o sulfatiazol e a sulfadiazina, muito activas na terapêutica das infecções por gram-positivos mas sem qualquer efeito nos animais de laboratório infectados com tuberculose. Domagk tinha aprendido que a persistência era um factor decisivo para conseguir resultados na investigação e, entre 1937 e 1940, pôs à prova nada menos do que 2000 variantes químicas da sulfonamida, numa tentativa de encontrar um efeito tuberculostático.

Com o início da II Guerra Mundial as prioridades da investigação passaram a ser dirigidas para medicamentos eficazes nas infecções piogénicas e na gangrena gasosa. Mas, mesmo assim, Domagk não desistiu e conseguiu convencer os responsáveis da Bayer a continuar a investigação na área da tuberculose, agregando a esse projecto um jovem químico, Robert Behnish, que foi encarregado de introduzir alterações na molécula da sulfonamida. Em Novembro de 1941, Behnish tinha sintetizado já um composto com capacidade para bloquear o crescimento do bacilo de Koch *in vitro*. Era uma estrutura simples, a *tiosemicarbazona*, a partir da qual se podiam obter centenas de variantes químicas.

Entretanto, a evolução do conflito militar tinha tornado insuportáveis as condições de trabalho na Bayer, apesar do Alto Comando Aliado, informado das investigações que estavam em curso, ter dado ordens para que os bombardeamentos poupassem as instalações da fábrica. Mas com o agravamento da situação toda a investigação foi suspensa em Novembro de 1944, só voltando a ser retomada no fim da guerra, em Maio de 1945. Foi nessa altura que Domagk e Behnish recomeçaram as suas pesquisas.

Das centenas de tiosemicarbazonas até então produzidas, tinha sido seleccionada uma que ficaria

conhecida por *Conteben* e, em 1946, tudo estava preparado para que fossem iniciadas as primeiras experiências clínicas. De uma forma anárquica e sem obedecer a qualquer rigor científico, a nova droga começou então a ser usada em casos de tuberculose cutânea, miliar, pulmonar, laringea e urinária. O recrudescimento da doença no pós guerra e o prestígio de Domagk favoreciam a adesão dos clínicos à nova terapêutica e, entre 1947 e 1949, vários milhares de tuberculosos foram tratados com *Conteben*. No seu conjunto, os resultados pareciam indiciar a eficácia da droga.

Estas notícias acabaram por chegar aos EUA e no Outono de 1949 dois clínicos, Corwin Hishaw e Walsh McDermott, foram enviados à Alemanha para tentar perceber o que se estava a passar. Depois de estudarem os processos clínicos de vários doentes, concluíram haver fortes razões para admitir que alguns deles tinham sido curados com a administração do medicamento. Regressaram então aos EUA com um fornecimento de *Conteben*, acontecimento que alguma imprensa considerou, com alguma ironia, situar-se dentro da lógica dos “despojos de guerra”. Aliás, desde o início do conflito, as patentes alemãs não estavam protegidas em território americano e não existia, portanto, qualquer obstáculo ao acesso e à manipulação da molécula de tiosemicarbazona. Foi desta situação que se aproveitaram dois líderes americanos da investigação química, Herbert Fox, da Hoffman-La Roche, e Jack Bernstein, da Squibb Pharmaceutical Company, e entre 1949 e 1952 milhares de combinações da molécula de *Conteben* foram testados contra o bacilo tuberculoso.

Entretanto, em 1950 Hishaw e McDermott publicavam um artigo¹ no qual divulgavam os resultados que tinham sido obtidos em 2 000 casos de tuberculosos tratados com tiosemicarbazona nas 10 instituições hospitalares que tinham visitado na Alemanha em 1949. Acabavam por atribuir à nova droga uma eficácia semelhante ao PAS e uma toxicidade comparável aos arsenicais usados na sífilis, e entendiam que os dados disponíveis eram suficientemente promissores para justificar a rápida realização de ensaios clínicos.

Em Setembro de 1951, Domagk deslocou-se aos EUA a convite do *12th International Congress of Pure and Applied Chemistry*. Na sua palestra apresentou uma tabela comparativa da eficácia das drogas anti-tuberculosas conhecidas, a saber: PAS, estreptomicina, tiosemicarbazona e, por fim, *hidrazona*, da qual

os congressistas não tinham ouvido falar até então. Segundo os dados apresentados por Domagk, este novo composto, com o nome químico de *isoniazida*, parecia ser de longe o mais potente anti-tuberculoso e resultara da simples substituição do anel benzeno da tiosemicarbazona pelo anel piridina.

Herbert Fox, da Hoffman-La Roche, que estava presente, não queria acreditar no que ouvia. Como revelaria mais tarde, também ele fizera já esta descoberta mas decidira mantê-la em absoluto segredo, apesar de ter iniciado, quatro meses antes, os primeiros testes clínicos no Sea View Hospital de Nova York. A verdade é que, durante este encontro, nem ele nem Domagk abriram o jogo em relação ao novo medicamento.

Mas as coincidências não iam ficar por aqui. Antes de deixar os EUA, Domagk teve um encontro de despedida com McDermott. Segundo se soube depois, também este tinha já iniciado testes clínicos com a *Nydrázida* que lhe fora fornecida por Jack Bernstein e que não era senão a marca de fabrico da *isoniazida* produzida pela Squibb. McDermott manteve segredo sobre o assunto, convencido, como estava, de que mais ninguém se encontrava a par das extraordinárias potencialidades da nova droga. Só quando, no final desse ano, foi convidado pela Hoffman La-Roche para participar num estudo clínico cooperativo, percebeu que pelo menos outro grupo já tinha feito a mesma descoberta.

O que acontecera é que, ao mesmo tempo e no maior secretismo, três laboratórios tinham começado a fazer ensaios clínicos com a mesma substância, naquilo que se pode considerar um exemplo flagrante de “descoberta simultânea”. O “*Rimifon*” da Roche, a “*Nydrázida*” da Squibb e o “*Neoteben*” da Bayer eram marcas diferentes da mesma substância, a *isoniazida*, composto de estrutura química simples obtido a partir da tiosemicarbazona. O que é mais curioso é que a síntese da *isoniazida* tinha sido já obtida em 1912 por Hans Meyer e Josef Mally, dois cientistas que preparavam o seu doutoramento na Universidade de Praga e que, naturalmente, nunca suspeitaram das potencialidades terapêuticas da substância que tinham descoberto. Por isso, tal como acontecera no passado com a sulfonamida, também agora nenhum dos laboratórios podia registar a patente do novo medicamento.

A *isoniazida*, além de barata e fácil de fabricar, revelava ter poucos efeitos secundários e os ensaios clínicos entretanto realizados nos EUA, pela Roche e

pela Squibb, e na Alemanha pela Bayer, demonstravam uma extraordinária eficácia mesmo nos casos considerados desesperados. Finalmente com a associação da isoniazida à estreptomomicina e ao PAS – a chamada quimioterapia tripla – viria a ser possível conseguir curas completas em 90 a 95% das várias formas de tuberculose.

É sabido que o benefício trazido pelos tuberculostáticos não foi equitativo e que a tuberculose tem continuado a registar elevadas taxas de morbilidade e de mortalidade nas regiões subdesenvolvidas. Por outro lado, nos países ocidentais assistiu-se nas últimas décadas a um alarmante aumento de novos casos da doença. As resistências do bacilo aos medicamentos, as migrações de populações, a difícil adesão a uma terapêutica que tem de ser prolongada para ser eficaz, o aparecimento da sida e o desinteresse da indústria farmacêutica por uma área pouco lucrativa – tudo isto tem contribuído para que a tuberculose continue entre nós.

Mas, a partir daquele extraordinário período de oito anos em que se assistiu ao aparecimento da estreptomomicina, do PAS e da isoniazida, a tuberculose nunca mais voltou a ser o que era. Os sanatórios começaram a fechar e a colapsoterapia, progressivamente abandonada, passou a ser apenas uma triste recordação de um passado que não voltaria mais. O terrível medo do contágio, que atormentara tantas gerações, estava agora praticamente afastado e a medicina dispunha finalmente de um tratamento eficaz para uma das mais mortíferas doenças que tinham atormentado a espécie humana ao longo da sua história. ■

Bibliografia

1. Shatz A, Bugie E, Waksman S. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. *Proc Soc Exper Biol. & Med* 1944;55:66-69.
2. Feldman WH, Hinshaw HC. Effects of streptomycin on experimental tuberculosis in guinea pigs. *Proc Staff Meet Mayo Clin.* 1944;19: 593-599.
3. Hinshaw HC, Feldman WH. Streptomycin in the treatment of clinical tuberculosis. *Proc Meet Mayo Clinic* 1945; 20: 313-318.
4. Hinshaw HC, Feldman WH, Preutz KH. Streptomycin in the treatment of clinical tuberculosis. *Am Rev Tub* 1946; 54: 191-203.
5. Streptomycin treatment of tuberculosis. A Medical Research Council Investigation. *BMJ* 1948; 2; 769-782.
6. Tapia M e col. Nuestra experiencia sobre el tratamiento de la tuberculosis por la estreptomomicina. (1948). *Liv Luso-Espanhola, L^a*
7. Tapia M e col. Los resultados del tratamiento de la tuberculosis pulmonar con estreptomomicina, basados en el estudio de 200 casos. *Estatística de 1947 da Estância Sanatorial do Caramulo*, pg. 35-56.
8. Lehmann, J. Paraminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis. *Lancet*, Jan.5, 1946: 15-16.

9. Treatment of tuberculosis with PAS and streptomycin: preliminary report. *BMJ* 31 Dec.1949:1521.
10. Hinshaw HC, McDermott W. Thiosemicarbazone therapy of tuberculosis in humans. *Am Rev Tuberc* 1950; 61:145-157.

Bibliografia consultada

- Ekweani CN. Anti-tuberculous Chemotherapy: 120 years on. *Ann Afric Med.* 2004; 3: 116-119.
- Fanu J.L. *The rise and fall of modern medicine* (1999). Little, Brown and Company.
- Hill AB. Memories of the British Streptomycin Trial in Tuberculosis. *Controlled Clinical Trials* 1990; 11: 77-79.
- Iseman MD. Tuberculosis Therapy. *Eur Resp J* 2002; 20: 87S-94S.
- Murray JF. A Century of Tuberculosis. *Am J Crit Care Med.* 2004; 169: 1181-1186.
- Ryan F. *Tuberculosis: The Greatest Story Never Told* (1992). Swift Publishers.
- Wallgren A. Presentation Speech. Nobel Price of Medicine or Physiology, 1952.
- Waksman S. Streptomycin: background, isolation, properties and utilization. Nobel Lecture, Dec. 1952.
- Yoshioka A. Use of randomisation in the Medical Research Council's clinical trial of streptomycin in pulmonary tuberculosis in 1940s. *BMJ* 1998; 317: 1220-1223.