



La curiosa historia del azul tripán: Un colorante que se convirtió en parasiticida

The curious story of trypan blue: A dye that became a parasiticide

Julio González-Martín-Moro^{1,2}

¹ Ophthalmology Department; Hospital Universitario del Henares. Madrid. Spain.

² Faculty of Medicine. Universidad Francisco de Vitoria. Madrid. Spain.

Servicio Oftalmología, Hospital Universitario del Henares, Av. Marie Curie sn. Coslada. 28080. España.
juliogmm@yahoo.es; juliogazpeitia@gmail.com; Tel: +34 659 912578

RESUMEN

En Alemania, a finales del siglo XIX, la industria química desarrolló numerosos colorantes cuya actividad biológica se estudiaría en una segunda fase. Ehrlich introdujo el rojo nagana, que serviría de base para desarrollar el azul tripán (AT). El AT era capaz de teñir y matar los tripanosomas. Su uso como antiparasitario estaría limitado precisamente porque coloreaba los tejidos, pero sirvió de base para desarrollar la suramina que se sigue utilizando en el tratamiento de la tripanosomiasis. El AT se usa en el laboratorio, y tuvo un papel central en el descubrimiento de la barrera hematoencefálica. Sin embargo, la mayor parte de sus aplicaciones son oftalmológicas. Cada vez que teñimos la cápsula del cristalino, debemos recordar su rica historia y lo importante que es la transversalidad en el desarrollo científico. Afortunadamente, la teoría de la bala mágica formulada por su descubridor se cumple a la perfección en el caso del azul tripán, que es mortal para los tripanosomas e inócua para los tejidos oculares, incluyendo el endotelio corneal.

Palabras clave: Azul tripán, colorantes vitales, tripanosomas, tripanosomiasis, enfermedad del sueño.

ABSTRACT

In Germany, at the end of the 19th century, the chemical industry developed numerous dyes whose biological activity would be studied in a second phase. Ehrlich introduced red nagana, which would serve as the basis for developing trypan blue (TB). TB was able to stain and kill trypanosomes. Its use as an antiparasitic would be limited precisely because it colored tissues, but it served as the basis for developing suramin, which is still used in the treatment of trypanosomiasis. TB is used in the laboratory, and it played a central role in the discovery of the blood-brain barrier. However, most of its applications are ophthalmological. Every time we stain the lens capsule, we must remember its rich history and how important transversality is in scientific development. Fortunately, the magic bullet theory formulated by its discoverer holds up perfectly in the case of TB,

Comunicación presentada en la XXVIII Reunión del Grupo de Historia y Humanidades en Oftalmología durante el 98 Congreso de la Sociedad Española de Oftalmología, celebrado en Pamplona el 23 de septiembre de 2022.

which is deadly to trypanosomes and harmless to ocular tissues, including the corneal endothelium.

Keywords: Trypan blue, vital dyes, trypanosomes, trypanosomiasis, sleeping sickness

A mediados del siglo XIX Alemania se estaba transformando en una de las naciones más pujantes de Europa. La industria química, desarrolló numerosos colorantes sintéticos que fueron sustituyendo progresivamente a los colorantes naturales, abaratando mucho el proceso de fabricación de los tejidos. Al mismo tiempo Alemania con Koch y Virchow a la cabeza, competía con la Francia de Pasteur en investigación biomédica. La actividad biológica de muchos de los colorantes que continuamente desarrollaba la industria química era probada en una etapa posterior en los institutos y universidades.

En este contexto de innovación continua nació Paul Ehrlich, el 14 de marzo de 1854 en Strehlen (Silesia, en lo que hoy es el suroeste de Polonia). Ehrlich trabajó en numerosas líneas de investigación en el ámbito de la inmunología y la microbiología, siendo sus aportaciones tan significativas que le hicieron merecedor del premio Nobel de medicina y fisiología del año 1908, compartido con Mechnikov. Un género de las bacterias Rickettsiales, *Ehrlichia*, fue bautizado en su honor; participó en el desarrollo y la mejora del suero antidiftérico, determinando el momento en el que tras la inyección de la toxina en el caballo los niveles de anticuerpos contra la misma eran más elevados (1). El desarrollo de estos sueros antidiftéricos constituyó un avance importantísimo porque la difteria era una causa muy importante de mortalidad infantil. Pero sin lugar a dudas sus aportaciones más importantes se produjeron en el ámbito de la quimioterapia porque él es el creador de la idea de la bala mágica. El progreso prodigioso de la industria química hacía por primera vez posible la creación de fármacos que actuaran de forma precisa sobre determinadas dianas. Resulta curioso que este nuevo concepto de desarrollar fármacos de precisión viniera en gran medida inspirado en la observación de los colorantes. Si un colorante tiñe de forma selectiva un tejido o un microorganismo, también lo podría matar de forma selectiva. Paul Ehrlich es el creador de este nuevo concepto filosófico y el científico que desarrolló los primeros fármacos microbiocidas que se ajustan a esta idea. De ellos, él

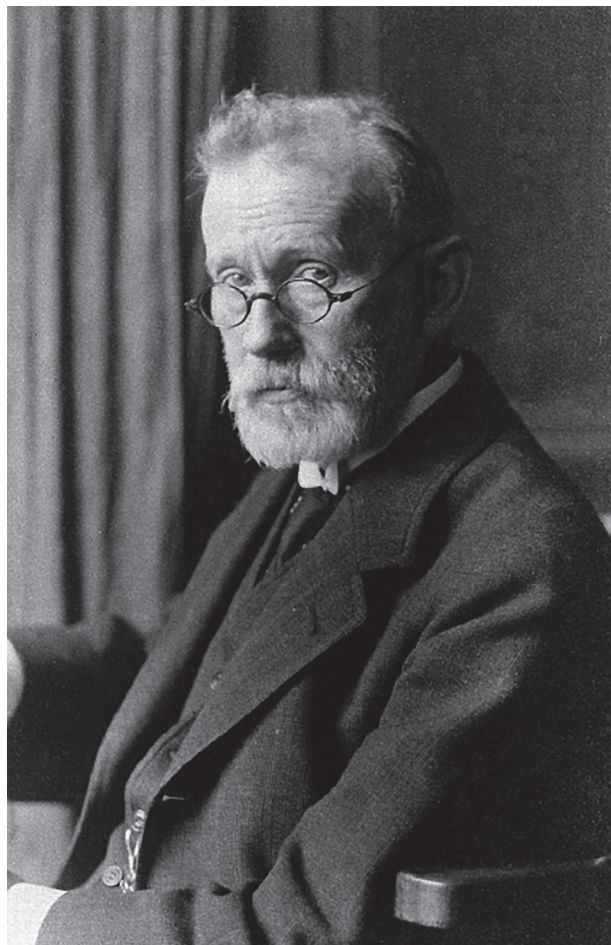


Figura 1: Paul Ehrlich (14 de Marzo de 1854, Strzelin, Polonia-20 de Agosto de 2015, Hamburgo, Imperio alemán). Paul Ehrlich, es el creador de la teoría de la bala mágica.

que ha pasado a la historia como un hito en la farmacología moderna es el salvarsán o arsfenamina, primer fármaco eficaz en el tratamiento de la sífilis, que combinaba un átomo de arsénico (cabeza nuclear que destruye el objetivo señalado) con un colorante (sistema que guía el átomo de arsénico hacia su destino), consiguiendo de este modo una eficacia elevada con un perfil de seguridad nunca antes imaginado.

El azul tripán es un colorante ampliamente utilizado en oftalmología. La mayor parte de los oftalmólogos lo utilizamos sin conocer su origen. Desde el punto de vista etimológico el término tripán, deriva del latín Trypanon, y significa taladro o trépano. Los tripanosomas recibieron este nombre por presentar un flagelo que inicialmente se pensó que usaban a modo de taladro para perforar la célula y penetrar en su interior y precisamente el azul tripán recibió este nombre por ser capaz de teñir los tripanosomas (2).

En el desarrollo de esa línea de colorantes con capacidad tripanosomicida Ehrlich se implicó de forma decisiva. El primero en ser estudiado, fue un colorante rojo, que recibió el nombre de rojo nagana (nagana es el nombre que recibí la enfermedad del sueño en lengua zulú). El rojo nagana, era capaz de alargar de forma sustancial la vida de los ratones infectados con tripanosomas. Pero su eficacia estaba limitada por su baja solubilidad. Por ello, en 1903, Ludwig Benda en Frankfurt sintetizó el azul tripán a partir del rojo nagana, mucho más soluble y eficaz, pero además de presentar todavía importante toxicidad coloreaba los tejidos del paciente tratado, por lo que apenas se usó en medicina y su paso por veterinaria fue también efímero, ya que teñía la carne de un color azul que la hacía poco apetecible para el consumo.

En 1915 Ehrlich murió de un ictus, pero la línea de investigación que él había iniciado continuaba abierta. En 1917, en plena Guerra mundial, después de investigar 1000 naftalene ureas, se desarrolla el Bayer 205, que se llamaría germanina (3). Este compuesto era eficaz, poco tóxico e incoloro. La importancia estratégica de este parasiticida fue tal, que la derrotada Alemania propuso al imperio británico, compartir la fórmula del fármaco a cambio de recuperar los territorios perdidos durante la Primera Guerra Mundial. Londres rechazó de entrada esta negociación. Poco después, en 1924, Ernest Fourneau (químico francés), da con la fórmula de la germanina que sería rebautizada y denominada suramina en lo sucesivo.

En cualquier caso, un siglo después, la «germanina», hoy llamada «suranina» permanece en el vademécum como parasiticida (2-4). De hecho es el fármaco más antiguo de los utilizados en el tratamiento de la enfermedad del sueño, y el azul tripán sigue utilizándose como colorante en la industria textil, y tiene numerosas aplicaciones biomédicas.

El azul tripán tuvo además un papel muy importante en el descubrimiento de la barrera hematoencefálica. Cuando se inyecta por vía intravenosa colorea todos los tejidos, excepto los que conforman el sistema nervioso central (5,6). Cabían dos posibilidades o bien no presentaba afinidad por dichos tejidos o bien no era capaz de entrar en el interior de este órgano porque algún tipo de barrera lo impedía. Con el tiempo, una serie de experimentos en los que la inyección intratecal del colorante sí era capaz de teñir estos tejidos acabó demostrando que la hipótesis correcta era la segunda (5,6).

El azul tripán sigue teniendo un papel importante en el laboratorio, porque es capaz de teñir las células muertas, por lo que se utiliza para valorar la viabilidad de los cultivos celulares. Probablemente la especialidad médica en la que ha alcanzado usos más variados es la oftalmología. Este colorante constituye una herramienta quirúrgica muy versátil. Se usó inicialmente para valorar la viabilidad del endotelio corneal donante en las querato-

plastias (7,8). Con posterioridad Melles lo usó para teñir la cápsula anterior y facilitar la capsulorrexia en la cirugía de catarata (8,9). Se utiliza asimismo en cirugía vitreoretiniana para teñir la membrana limitante interna (10) y en cirugía de glaucoma para valorar la permeabilidad de determinados procedimientos quirúrgicos.

Algunas ideas como la impregnación de los cuchilletos en este colorante para que marquen la incisión en el momento de su realización, no han alcanzado desarrollo industrial de momento, pero no es descartable que lo alcancen en el futuro (12). Toda esta historia que en su mayor parte tuvo lugar en Alemania debe recordarnos lo importante que es la transversalidad en el progreso científico y como los descubrimientos en una rama de la ciencia pueden impulsar el progreso de otras ramas de la misma.

BIBLIOGRAFÍA

1. Hüntelmann AC. Diphtheria serum and serotherapy. Development, production and regulation in fin de siècle Germany. *Dynamis*. 2007; 27: 107-31.
2. Wainwright M. Dyes, trypanosomiasis and DNA: a historical and critical review. *Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm*. 2010 Dec; 85(6): 341-54.
3. P De Koning H. The Drugs of Sleeping Sickness: Their Mechanisms of Action and Resistance, and a Brief History. *Trop Med Infect Dis*. 2020 Jan; 5(1).
4. Steverding D. The development of drugs for treatment of sleeping sickness: a historical review. *Parasit Vectors*. 2010 Mar; 3(1): 15.
5. Saunders NR, Dreifuss J-J, Dziegielewska KM, Johansson PA, Habgood MD, Møllgård K, et al. The rights and wrongs of blood-brain barrier permeability studies: a walk through 100 years of history. *Front Neurosci*. 2014; 8: 404.
6. Bentivoglio M, Kristensson K. Tryps and trips: cell trafficking across the 100-year-old blood-brain barrier. *Trends Neurosci*. 2014 Jun; 37(6): 325-33.
7. Norn MS. Per operative trypan blue vital staining of corneal endothelium. Eight years' follow up. *Acta Ophthalmol*. 1980 Aug; 58(4): 550-5.
8. Jhanji V, Chan E, Das S, Zhang H, Vajpayee RB. Trypan blue dye for anterior segment surgeries. *Eye (Lond)*. 2011 Sep; 25(9): 1113-20.
9. Melles GR, de Waard PW, Pameyer JH, Houdijn Beekhuis W. Trypan blue capsule staining to visualize the capsulorhexis in cataract surgery. *J Cataract Refract Surg*. 1999 Jan; 25(1): 7-9.
10. Bergamo VC, Caiado RR, Maia A, Magalhães OJ, Moraes NSB, Rodrigues EB, et al. Role of Vital Dyes in Chromovitrectomy. *Asia-Pacific J Ophthalmol (Philadelphia, Pa)*. 2020 Nov; 10(1): 26-38.
11. Parker JS, Parker A, Parker JS. Trypan blue-assisted microinvasive glaucoma surgery. Vol. 43, *Journal of cataract and refractive surgery*. United States; 2017. p. 1613.
12. Kayıkçioğlu O. Clear corneal incision with trypan-blue-coated blades. Vol. 33, *Journal of cataract and refractive surgery*. United States; 2007. p. 351-2.