

## Oswald T. Avery y la naturaleza genética del ADN: ¿un caso de descubrimiento científico prematuro o de resistencia paradigmática?

Raúl Mayo Santana

Universidad de Puerto Rico, Recinto de Ciencias Médicas

[raul.mayo@upr.edu](mailto:raul.mayo@upr.edu)

### Resumen

La demostración experimental por Oswald T. Avery, Colin M. McLeod y Maclyn McCarty, en 1944, sobre el ADN como la sustancia biológicamente activa del principio de transformación bacteriana, fue recibida con escepticismo, por parte de comunidades científicas de la época, y estuvo rodeada de controversia, desde bien temprano. Dicha reacción puede considerarse, más bien, un ejemplo de resistencia paradigmática (i.e., los resultados no son aceptados por ser contradictorios con la interpretación imperante), ante la teoría predominante de las proteínas como el material genético, que un caso de descubrimiento prematuro (i.e., las implicaciones no pueden conectarse lógicamente con el conocimiento canónico).

*Palabras claves:* ADN, Avery, principio de transformación, descubrimiento prematuro, paradigma

### Abstract

The experiments made in 1944 by Avery, MacLeod and McCarty, of DNA as the biological active principle in bacterial (pneumococcal) transformation was received with skepticism and controversy. The skeptical and disregarding response by prominent members of the scientific community to the 1944 results, represents a case of paradigmatic resistance (i.e., findings are rejected because they contradict core and/or critical elements of the prevalent theory) born from the historical dominant paradigm of the protein nature of the gene, rather than a premature discovery (i.e., implications cannot be logically connected to canonical knowledge).

*Keywords:* DNA, Avery, transforming principle, premature discovery, paradigm.

*Moreover, bacteria provided access to the chemistry of genetic material. If genes released by crushing of bacteria could really penetrate other bacteria, if they could take root in them and give them new characters, then the chemist could intervene. He could extract genes, measure and purify them like any other compound. That is how Avery found genetic activity to be linked to the presence of deoxyribonucleic acid.*

François Jacob, *The Logic of Life*, 1970/1973, p. 264

## **Introducción**

En el curso de una década, entre los años de 1859 y 1869, surgieron los trabajos científicos más decisivos en la historia moderna de los fenómenos de la herencia y la reproducción biológica (Dahm, 2010). En 1869, tres años después del escrito fundacional de la genética clásica por Gregor Mendel (1865) y diez años más tarde de la obra magna de Charles Darwin (1859) sobre la teoría de la evolución, comienza la historia fascinante de la molécula cardinal de la vida cuando el médico y biólogo suizo Friedrich Miescher (1844-1895) (el artículo original se publicó en 1871, aunque fue sometido dos años antes) identificó químicamente la substancia que luego se conocería como ADN—restando todavía por conocerse su estructura y función. Miescher, como investigador en el laboratorio de Felix Hoppe-Seyler en la Universidad de Tübingen, uno de los principales bioquímicos de la época (Buess, 1952), purificó y analizó, mediante procedimientos de laboratorio novedos y el uso de métodos enzimáticos, a partir de núcleos de células blancas (leucocitos obtenidos de pus de los vendajes desechados de un hospital), la composición química de una substancia nuclearia con propiedades diferentes a las proteínas (por ser rica en fósforo y resistente a la destrucción por enzimas—aunque con una proporción de azufre que indicaba presencia de proteína) a la que llamó “nucleína” (Dahm, 2010). Más tarde, Miescher logró purificar aún más la nucleína, obteniendo una substancia libre de proteína a partir de las pruebas y los estándares de la época (Lagerkvist, 1998). En 1889, Richard Altmann desarrolló un método para la preparación de la nucleína, quedando esta libre de proteína, e introdujo el término de “ácido nucleico”, nombre por la cual pasó a conocerse entonces la “nucleína” de Miescher (Sturtevant, 1965; Lagerkvist, 1998).

El enfoque bioquímico del estudio de la naturaleza del material hereditario comenzó de esa manera con los trabajos de Miescher (Sturtevant, 1965; p. 104); aunque él mismo, hasta el día

de su deceso, cuestionó los hallazgos subsiguientes que asociaban a la nucleína con la sustancia responsable de la transmisión genética (Lagerkvist, 1998). En 1882, mediante el uso de nuevas técnicas sintéticas de tinción que favorecieron el estudio de los núcleos de las células, el histólogo alemán Walther Flemming introdujo la noción de “cromatina” (“to denote the basophilic [stained with basic dyes] structures in the nucleus”), sugiriendo que, al menos, en su estructura contenía la nucleína de Miescher (Lagerkvist, 1998, pp. 61-62). Los estudios de la época en torno a los núcleos celulares y la función de los cromosomas, propiciaron que la cromatina, específicamente la nucleína que contenía, fueran propuestas como la base molecular de la herencia. Sin embargo, la aparente discontinuidad de la presencia de cromatina en el núcleo, por la disolución de la estructura cromosomal en el periodo intermitótico, y las características supuestas de su estructura molecular (pequeña y monótona), propició que la teoría de la cromatina/nucleína—que prevaleció en la biología a fines del siglo 19 y que tanto irritara al propio Miescher—perdiera apoyo al sobrevenir el nuevo siglo (Lagerkvist, 1998). En 1893, las investigaciones del renombrado médico y científico alemán, Albrecht Kossel (1910), retomando los hallazgos de Miescher y bajo la influencia del mismo Hoppe-Seyler, contribuyó decisivamente a dilucidar las características químicas esenciales de los ácidos nucleicos (Lagerkvist, 1998). Los estudios de Kossel mostraron la existencia de dos tipos de ácidos nucleicos; llegando a identificarse, por él y otros investigadores, sus respectivas bases y azúcares—arribando así a la diferenciación moderna de ADN y ARN (Sturtevant, 1965). Al inicio, el estudio de los ácidos nucleicos era de mayor interés para los químicos que para los geneticistas (Beadle y Beadle, 1966). A fines de los 1920s y principios de los 1930s, investigaciones bioquímicas de los cromosomas, mediante técnicas de tinción (Robert Feulgen, científico alemán) y de microscopía bajo luz ultravioleta (Torbjörn Caspersson, citólogo y geneticista sueco), demostró que los cromosomas, y por ende los genes, contenían ADN en abundancia (Beadle y Beadle, 1966; Sturtevant, 1965). Surgieron así algunos científicos que empezaron de nuevo a asociar el ADN con el material básico de la vida, mientras que la mayoría defendía el papel principal de las proteínas y las enzimas en la regulación genética.

### **Los estudios bacteriológicos**

Otro tipo de enfoque sobre el estudio del material genético surgió de los estudios médicos bacteriológicos. A principios del siglo 20, la neumonía era considerada una de las principales

causas de muerte en Europa, Estados Unidos, y Asia (Osler, 1892/1909; Amsterdamska, 1993). Un prominente texto de fines del siglo 19 y principios del 20, *The principles and practice of medicine*, escrito por William Osler (1909), profesor de medicina en John Hopkins University, la caracterizó como, “The Captain of the Men of Death”—utilizando la frase famosa que usó John Bunyan para referirse a la tuberculosis (Austrian, 1967). En 1881, dos microbiólogos, el médico militar estadounidense George M. Sternberg y el francés Louis Pasteur, de manera independiente, describieron por primera vez una bacteria de forma oval (“coccoïd”) obtenida de saliva humana y demostraron su potencial patogénico en animales (Watson, Musher, Jacobson y Verhoef, 1993). Aunque Edwin Klebs (patólogo suizo-germano), en 1875, fue el primero que observó la presencia de bacterias en los contenidos de los bronquios de pacientes que murieron de neumonía, fueron Carl Friedländer (patólogo y microbiólogo alemán), en 1882, y Albert Fränkel (médico alemán), en 1884, los primeros en identificar los dos tipos más comunes de bacterias asociadas a la enfermedad (Austrian, 1960). Estableciéndose el neumococo (designado *Streptococcus pneumoniae*, en 1974), como el principal factor etiológico en la mayor parte de las neumonías lobares (caracterizadas por inflamaciones al pulmón, toxemia y fiebre)—las cuales estudiaría Frederick Griffith en 1928.

A fines del siglo 19 y principios del siglo 20, el asunto de la especiación, inestabilidad y variabilidad de las bacterias era uno altamente debatido (Olby, 1974/1994). En 1909 y 1910, Fred Neufeld (médico y bacteriólogo alemán) y, su colaborador, L. Händel, ambos del Instituto Koch en Berlín, reportaron haber encontrado diferencias inmunológicas importantes entre cultivos de neumococos de los pacientes, que dividieron en tres tipos serológicos principales (Tipos I-III) (Dubos, 1976; Olby, 1974/1994). En 1913, Alphonse R. Dochez, bacteriólogo estadounidense del Hospital Rockefeller, aparte de confirmar los tres grupos descritos por los bacteriólogos alemanes, identificó un cuarto grupo (IV) con características serológicas variadas (Dubos, 1976; Olby, 1974/1994; Watson et al., 1993). Antes de 1913, el tratamiento de la neumonía con antisueros (inmunización pasiva de la época), generados en animales inoculados con neumococos, producía resultados inciertos porque se desconocía la diversidad de tipos de neumococos capsulares (Austrian, 1967). En 1921, el bacteriólogo británico Joseph A. Arkwright, a partir del estudio de cepas virulentas y atenuadas de diferentes bacterias (principalmente *Shigella*), proveyó una descripción clara de las colonias virulentas, a las que nombró S (“smooth”—estirpe de forma capsular lisa, ovalada y regular), y de las atenuadas, R

(“rough”—de forma capsular rugosa o granular), llegando, incluso, a considerarlas como variaciones persistentes o “mutantes” (Olby, 1974/1994). Subsiguientemente, las formas S y R fueron encontradas en otras bacterias, incluyendo en el neumococo en 1923 (Olby, 1974/1994).

Oswald T. Avery (1877-1955), médico bacteriólogo (hoy, incluso, se le describe como biólogo molecular) canadiense-estadounidense del Hospital del Instituto Rockefeller en la ciudad de Nueva York, y su equipo de trabajo, contribuyeron significativamente en el desarrollo de la inmunología bacteriológica del neumococo. En 1917, Dochez y Avery descubrieron que los fluidos de cultivos de neumococos (como en la difteria), luego de ser filtrados para remover la bacteria, contenían una sustancia soluble que formaba un precipitado que al unirse al antisuero del mismo tipo el organismo experimental lo utilizaba como protección mediante aglutinación (Olby 1974/1994; Avery, 1985). En 1923, Avery y Michael Heidelberger (químico orgánico del Instituto Rockefeller), encontraron que las capas de las cepas patogénicas eran mayormente polisacáridos—y cada polisacárido era específicamente antigénico, lo que tenía implicaciones epidemiológicas importantes (Olby, 1974/1994; Darnell, 2011). Una parte de la investigación médica bacteriológica se concentró en el estudio de los diferentes tipos serológicos de neumococos identificados hasta ese momento (i.e., Tipos I-IV) (luego, 85 serotipos, según Watson et al., 1993; hoy, más de 90) que se encontraban, por ejemplo, en el transcurso de una epidemia en una misma persona en diferentes momentos de la infección. Las bases de esta variabilidad y su relevancia clínica no estaban en nada claros para los médicos bacteriólogos de la época (Dawes, 2004). ¿Cuál era el significado de tales fluctuaciones? Si los caracteres de los antígenos de los diferentes tipos eran todos importantes, resultaría entonces muy difícil encontrar un suero terapéutico o una vacuna efectiva contra las diversas infecciones. Según Olby (1974/1994), tales complejidades bacteriológicas de los neumococos le dieron un fuerte impulso al desarrollo de la ciencia de la inmunología, que propiciaría la eventual identificación del material hereditario.

Este fue el contexto histórico científico en el que se dio la identificación del principio de transformación bacteriana por Frederick Griffith en 1928.

## **El principio de transformación**

En 1928, el patólogo y médico bacteriólogo británico, Frederick Griffith (c1879-1941) descubrió el principio de la transformación bacteriana mientras intentaba desarrollar una vacuna para prevenir la neumonía durante la epidemia de gripe que asolaba Europa luego de la Primera Guerra Mundial. La definición estándar de hoy en día de esta transformación es la siguiente: “the process of intercellular transfer of genetic information in which a small portion of the total DNA of a lysed [i.e., dead] bacterium enters a related bacterium and is incorporated into its genetic constitution” (*Dorland’s*, 1982; pp. 689-690). La naturaleza de la sustancia responsable del principio de transformación era precisamente uno de los grandes enigmas de la bioquímica de la época.

Un resumen del experimento principal de Griffith, ofrecido por Beadle y Beadle (1966, p. 159) es el siguiente: Griffith inyectó cobayas de ratones con dos formas de cepas de bacterias—una forma R (atenuada) en el que los gérmenes estaban vivos pero habían perdido su cápsula gelatinosa y por tanto eran incapaces de producir enfermedad; y una forma S (virulenta) muertos por calentamiento pero con cápsulas intactas. Ninguna de las inoculaciones producía enfermedad por sí sola, la primera por ser de la forma atenuada (R) y la segunda por estar muerta (S), pero si ambos inóculos eran inyectados juntos, sí la inducían. Las cobayas adquirirían una versión experimental de neumonía y el análisis post-mortem evidenció una fuerte infección del tipo vivo S, con cápsulas intactas. La transformación implicaba que los cultivos de bacterias muertas virulentas (S) imponían sus características a las bacterias no virulentas pero todavía vivas, y la transformación era permanente. La explicación prospectiva, increíble para la época, era que imponían o traspasaban sus características hereditarias.

## **El artículo de Griffith de 1928**

Veamos los experimentos de Griffith (1928) en detalles, que resultan no solo más complejos, sino también mucho más iluminadores en cuanto a la sistematización, rigurosidad y creatividad de los procedimientos experimentales utilizados por el bacteriólogo inglés. Como oficial médico del ministerio de salud pública de Londres, Griffith llevaba investigando las epidemias de neumonías desde 1920. En 1928, Griffith ya contaba, como hemos mencionado, con la distinción entre tipos serológicos o clases diferentes de cepas de neumococos previamente identificados: los tipos I y II, eran considerados los principales y más virulentos (“more invasive

strains”), y los grupos III y IV, se manifestaban secundarios y menos virulentos. Además, claro está, tomó en cuenta las diferencias ya establecidas en apariencias morfológicas de las colonias de bacterias: S (la estirpe lisa), virulentos, encapsulados (“well marked capsules”), y R (la estirpe rugosa), avirulentos, ‘clase atenuada’ de neumococo (Griffith, 1928, p. 117).

La primera observación de importancia que menciona Griffith es la presencia de diferentes tipos serológicos de neumococos hallados en varias muestras de las flemas o esputos tomadas en diferentes momentos de un mismo caso en el curso de una epidemia. Griffith (1928) consideró dos posibles explicaciones alternas de este fenómeno: la hipótesis de “modificación” y la hipótesis de “infección múltiple”, y estableció de inicio lo siguiente: “On a balance of probabilities interchangeability of type seems a no more unlikely hypothesis than multiple infection with four or five different and unalterable serological varieties of pneumococci” (p. 117). Griffith favoreció la explicación de la modificación. El investigador médico estadounidense, Maclyn McCarty, uno de los coautores del artículo seminal de Avery y asociados (1944), se preguntó porqué la resistencia de Griffith a la idea de las infecciones separadas, ya que la diseminación entre la población de varios tipos serológicos de neumococos era común en tiempos de alta incidencia de neumonía. No obstante, dice McCarty (1985), el escepticismo de Griffith “proved to be a vital element in the story of transformation by inspiring the direction of his future research” (p. 73).

El interés de Griffith era obtener un antígeno de una cepa menos virulenta (III ó IV) y atenuada (R), e indagar si el tipo atenuado (R) era capaz de revertir al virulento (S)—presumimos que la reversión haría inefectiva o riesgosa la vacuna. Pero, para lograr esto, tenía primero que obtener una forma más estable de R, mediante el uso de series serológicas (“several passages in serum... in series”, p. 121), porque en el momento no se conocía el efecto de las exposiciones repetidas en la acción inmune serológica del animal, una vez convertido el neumococo a la forma R. Las colonias puras de cultivos de R mostraban también diferencias entre ellas: en la capacidad de revertir, en el tipo de aglutinación y en las propiedades inmunológicas; además, los cultivos de S podían poseer grados intermedios de virulencia. En fin, encontró irregularidad en la reversión natural y llegó, incluso, a postular que la inoculación subcutánea de un cultivo en masa (la variable de cantidad) tiene el efecto de crear un nicho o nido en que la cepa R es capaz de desarrollarse en la forma virulenta encapsulada S e invadir

la corriente sanguínea (p 129). El mecanismo hipotetizado, según Griffith, era el siguiente: “the majority of the cocci break up and the liberated S antigen may furnish a pabulum [alimento] which the viable R... can utilize to build up their rudimentary S structure” (pp. 130-131). Griffith planteó que el desarrollo de una forma virulenta S de neumococo a partir de la inoculación masiva de una forma atenuada R, como resultado de un mecanismo inmunológico normal de protección en el animal, no puede ser el único factor presente en la producción de la reversión. Debido a que unas formas de R revierten al tipo virulento más fácilmente que otras, es posible, según Griffith, que tales estirpes “retained in their structure a remnant of the original S antigen” (p. 129)—esta idea es consistente con la hipótesis de modificación. La idea clave consistió en lo siguiente: “It appeared possible that suitable conditions could be arranged if the mass of culture was derived from killed virulent pneumococci, while the living R culture was reduced to an amount which, unaided, was invariably ineffective” (p. 130)—esto es, mediante la inoculación de neumococos vivos avirulentos R junto a neumococos virulentos muertos S.

Griffith (1928) procedió, entonces, a investigar las condiciones bajo las cuales formas estables de R podían revertir. Los experimentos preliminares consistieron en demostrar, primero, que los ratones inyectados con un cultivo virulento de S-Tipo II muertos por calentamiento (100°C) junto a R-Tipo II vivos, todos murieron por una infección virulenta de S-Tipo II. McCarty (1985), sugiere que fue aquí que la noción de Griffith sobre lo que debió haber estado ocurriendo durante el proceso de reversión, de R a S, emergió (“seemed to be borne out”, p. 75). Un experimento control consistente en la inoculación de R-Tipo II vivos junto a un tipo diferente de S-Tipo I muertos, no causaron la muerte de las cobayas. El control, según Griffith, demostró lo siguiente: a) R-Tipo II permanece atenuado en ausencia de S-Tipo II calentado, y b) R-Tipo II no revirtió en presencia de S-Tipo I calentado. El experimento en reverso, con R-Tipo I, variaba por niveles diferentes de temperatura. En este punto, los factores experimentales determinantes parecían ser, por un lado, las diferentes combinaciones de tipos serológicos de S muertos y R vivos y, por otro lado, la variable de temperatura utilizada en el calentamiento de S. Según McCarty (1985), Griffith conocía muy bien que el calentamiento a 100°C era un método muy áspero o radical para tratar material biológico, llegando experimentalmente a uno de sus procedimientos favoritos: calentamiento del cultivo a 60° por 2 ó 3 horas; más tiempo del necesario, pero una manera de asegurarse que no quedarán residuos de organismos vivos. Fue mediante este procedimiento que Griffith obtuvo los primeros resultados que

aparentaban involucrar una transformación en el tipo de neumococo capsular (de R a S) (McCarty, 1985, p. 75).

Griffith (1928), llevó a cabo una serie de experimentos variando las diferentes combinaciones de inoculación con una alta cantidad de tipos de neumococos virulentos (S) muertos, junto a una pequeña cantidad de atenuados (R) vivos. Un resumen de estos experimentos de inoculación conjunta es el siguiente:

- A. S-Grupo IV muertos *junto* a R-Tipo II vivos—causa reversión de R a S-Tipo II y septicemia fatal en las cobayas; mientras que junto a R-Tipo I vivos, no (pp. 132-133).
- B. S-Tipo I muertos *junto* a R-Tipo I y II vivos—“aparentemente” resulta en la conversión de R-Tipo II en un cultivo virulento de S de Tipo I ó II—la efectividad de la transformación varía por temperatura/tiempo (pp. 140-141).
- C. S-Tipo III muertos *junto* a R-Tipo I y II vivos—causa también transformación [de R a S-Tipo III activos], pero más frecuentemente con la forma R-Tipo II que con la forma R-Tipo I (pp. 143-144).
- D. S-Tipo II muertos *junto* a diferentes colonias atenuadas R-Tipo I vivos—produce transformación, pero varía por temperatura/tiempo; y diferentes colonias de R parecen variar en su habilidad de desarrollarse en una nueva forma S (p. 146).
- E. S-Tipos I y II vivos *junto* a diferentes variantes de R-Grupo IV, producen resultados variados por cepas A o B del grupo IV—R-IVA revierte más fácilmente a su S-Tipo I ó II correspondiente (p. 147).

Finalmente, la inoculación de cultivos vivos avirulentos (R-Tipo I ó II) junto a muertos avirulentos (R-Tipo I y II), aun en dosis grandes, no ejerció efecto alguno—ni reversión— en las cepas vivas de R. Esto es consistente con los resultados obtenidos, dice Griffith, ya que la transformación depende de la presencia del antígeno S, del cual solo podrían existir trazas en la estirpe de R (pp. 147-148). Griffith intentó pero fracasó en inducir la reversión *in vitro*: “Neither reversion to the S form nor transformation of type has been obtained *in vitro*” (p. 141). Como bien menciona McCarty (1985, p. 76), el cambio de tipos serológicos ocurrió con

suficiente frecuencia en sus diversos experimentos para asegurar que el principio de transformación era un fenómeno general que no se limitaba a un conjunto de condiciones limitadas o particulares. El experimento C descrito aquí, que combina S-Tipo III muertos junto a R-Tipo II vivos, que induce la transformación de las R en S-Tipo III activos, es el que Avery y asociados (1944) dan como ejemplo de evidencia convincente.

### **Algunos comentarios en torno a los hallazgos de Griffith**

Griffith (1928), menciona los siguientes asuntos de interés en la discusión de sus resultados. En primer lugar, el análisis serológico de una especie bacteriana tiene aplicaciones prácticas en el diagnóstico bacteriológico o en la preparación de suero terapéutico antibacteriano o de una vacuna. Griffith se hizo las siguientes preguntas: ¿Los tipos serológicos representan etapas en la vida normal de la bacteria o son respuestas de la bacteria a cambios de estados inmunológicos del animal hospedante? ¿Estos tipos son caracteres en estado de flujo o las diferentes variedades son formas estabilizadas? Las respuestas a estas preguntas, dice, serían valiosas contribuciones a la epidemiología de la enfermedad y podrían explicar el incremento o la disminución de las epidemias. La atención debe ir dirigida, según Griffith, a la prevención y, por tanto, el estudio realizado de virulencia bacteriana y su relación con la variación en tipos serológicos resulta esencial. Griffith sostuvo que: “Mutation of type among disease-producing bacteria is a subject of obvious importance in the study of epidemiological problems” (p. 154). Finalmente, respecto al curso natural de la infección, Griffith se pregunta, ¿cuál es el significado del cambio de S a la forma R? Su respuesta fue la siguiente: “By assuming the R form the pneumococcus has admitted defeat, but has made such efforts as are possible to retain the potentiality to develop afresh into a virulent organism”(p. 156). Según McCarty (1985), la extensa discusión en torno a los resultados de sus meticulosos y sistemáticos experimentos dejaba claro que su principal interés residía en las implicaciones epidemiológicas y en los patrones de la enfermedad—no hubo alusión al hecho sobresaliente de la permanencia de la transformación. De acuerdo a McCarty (1985):

Bacteriology had developed as a science almost as if unrelated to the rest of biology. It was too early in its history to expect genetic interpretations of any phenomena encountered in the laboratory (p. 77).

Griffith, como hemos visto, estaba interesado en el aspecto de la virulencia de las cepas de

neumococos causantes de la neumonía con el fin de desarrollar una vacuna, mediante la estrategia de obtener un antígeno de una cepa no virulenta y atenuada (R), pero tenía que asegurarse si el tipo atenuado (R), incapaz de causar enfermedad letal, era capaz de revertir a una forma virulenta S. Al encontrarse con el fenómeno de la transformación de tipos y formas serológicas, persistió en el camino de la explicación relacionada a la hipótesis de la modificación estructural y en esa indagación descubrió el famoso principio de transformación bacteriana. En su época, se presumía que los diferentes tipos serológicos de neumococos eran estables o inalterables, pero Griffith mostró lo contrario (O'Connor, 2008). Según Olby (1974/1994), en 1922 y 1923, Griffith ya consideraba la idea de que en una especie podían existir características, como los tipos de cápsulas polisacáridos, sujetas a “mutación” en respuesta a condiciones ambientales; y aunque no contaba con evidencia *in vitro* de “mutabilidad” en los tipos serológicos bacterianos, pudo mostrar que las transformaciones observadas, tanto en pacientes como en animales experimentales, podían explicarse no por múltiple infección sino por “mutación”. Sin embargo, sus explicaciones lo condujeron, como dice Olby (1974/1994, p. 177), por el camino del uso de “términos Darwinianos del siglo 19”. Sin embargo, me parece más útil la discusión de Olby (1974/194) sobre la noción de “pabulum” de Griffith; a saber: “This takes us back to the days when enzymes were chiefly known for their catabolic roles and when the distinction between growth and replication was not recognized... [that is to] the vitalistic conception of protoplasmic synthesis” (p. 176).

A pesar del escepticismo evidenciado por algunos—por ejemplo, del mismo Avery, por razones metodológicas (Olby, 1974/1994)—, resulta sorprendente que la confirmación de sus hallazgos y la aceptación del principio de transformación ocurriera de forma bastante rápida (McCarty, 1985). Fred Neufeld, prestigioso bacteriólogo, quien había visitado el laboratorio de Griffith en Londres recientemente, y su asistente W. Levinthal, del Instituto Koch en Berlín, publicaron resultados confirmatorios en 1928, a tan solo dos meses del artículo de Griffith. Neufeld estaba bien preparado para así hacerlo pues había estado trabajando en variación bacteriana en estudios de inter-convertibilidad de formas R y S de neumococos (Olby, 1974/1994; McCarty, 1985). En el mismo Instituto Rockefeller, el canadiense Martin Dawson, quien también había completado y sometido a publicación un estudio de inter-convertibilidad de las formas R y S de neumococos (Dawson, 1928), confirmó los resultados de Griffith en todos sus detalles (Dawson, 1930). Subsiguientemente, Dawson, ya en la Universidad de Columbia, con su

colaborador de descendencia china Richard Sia, lograron la transformación *in vitro* de tipos serológicos de neumococos (de R-Tipo II vivos, a S-Tipo III) (Dawson & Sia, 1931). Posteriormente, en 1932, Wilhelm Baurhenn en Heidelberg, confirmó la transformación *in vitro* de Dawson y Sia (Olby, 1974/1994). Más adelante, Lionel Alloway (1932), del Instituto Rockefeller, lograba la transformación *in vitro*, libre de células. Los experimentos de Griffith fueron así emulados y celebrados de diferentes maneras por importantes bacteriólogos en distintas partes del mundo.

Tendrían que transcurrir 16 largos años para que se lograra identificar el "principio de transformación" de Griffith, o sea, la substancia responsable de la transformación, el ADN. No fue hasta la década de 1940 que los científicos contaban con las técnicas investigativas para solucionar el enigma (Beadle & Beadle, 1966). El fenómeno de la transformación en sí misma, como hemos visto, fue reproducido temprano en el laboratorio de Oswald T. Avery, lo cual condujo a la purificación biológica del factor de transformación (Falk, 2009). En los 1940s, tras largos años de trabajo arduo, Avery y asociados (1944) lograron diseñar y llevar a cabo un experimento que efectivamente aislaba el agente responsable de la transformación de células bacterianas. Luego de obtener cantidad suficiente del agente para poder hacer pruebas, se propusieron dilucidar la naturaleza de la substancia (la decisión se encontraba entre el ADN—un ácido nucleico—o una proteína). Pruebas con enzimas digestivas se llevaron a cabo. La adición de enzimas que digerían proteínas y ARN dejaron el agente o material biológico intacto, mientras que enzimas que digerían ADN destruyeron completamente la substancia. Pruebas adicionales de centrifugación y electroforesis evidenciaron que solo ADN estaba presente. Por tanto, visto retrospectivamente, la conclusión inevitable debió haber sido que el ADN era el agente o la substancia de la transformación. Tal conclusión, aunque a todas luces evidente, no resultó tan aceptada en su momento—aunque sí lo fue, parcialmente, como veremos luego. Tomarían 8 años más, hasta llegar al experimento llevado a cabo por los bacteriólogos y geneticistas estadounidenses Alfred Hershey y Martha Chase en 1952, con virus vivos, para que la comunidad científica en general enfocara en el ADN y aceptara que la molécula era el material responsable de la transmisión genética.

### **El artículo seminal de Avery, McLeod y McCarty de 1944**

El artículo de Avery y asociados (1944), el cual puede considerarse como un modelo ejemplar

de diseño experimental, expone con claridad, en sus primeras dos oraciones, el propósito de los autores de ofrecer una demostración químico-genética del principio de transformación:

Biologists have long attempted by chemical means to induce in higher organisms predictable and specific changes which thereafter could be transmitted in series as hereditary characters. Among microorganisms the most striking example of inheritable and specific alterations in cell structure and function that can be experimentally induced and are reproducible under well defined and adequately controlled conditions is the transformation of specific types of Pneumococcus. (p. 137)

Subsiguientemente, los autores pasan a resumir la literatura, ya repasada en este ensayo, sobre la transformación bacteriana, así como la de un caso análogo de transformación viral (Berry & Dedrick, 1936)—mediante un proceso similar al de Griffith (de un virus activo de fibroma a una mixomatosis infecciosa). El objetivo de Avery y colaboradores era aislar la sustancia responsable de la transformación a partir de extractos crudos bacterianos e identificar su naturaleza química. El modelo experimental que utilizan es la transformación *in vitro* de una variante no-encapsulada de neumococo R-Tipo II a un neumococo activo de Tipo III (S)—mediante la inoculación de una cantidad pequeña de R (“young and actively growing cells”) junto a una mayor cantidad de S.

Con el interés de ilustrar cuan rigurosa y cuidadosa es la investigación llevada a cabo por Avery y asociados (1944), paso a describir las fases experimentales del experimento. Primero, para llevar a cabo la transformación de tipos de neumococos *in vitro*, se requiere de la estandarización de las condiciones necesarias de cultivo de la variante de neumococo R con el fin de obtener resultados consistentes y reproducibles; el llamado “sistema reactivo”—donde los autores demuestran la experiencia previa obtenida: a) los nutrientes (MacLeod y Mirick, 1942); b) el suero (Dawson y Sia, 1931; Alloway, 1932); c) la obtención de la variante R reactiva específica de tal manera que sea capaz de responder al estímulo de transformación y de prevenir los procesos destructivos enzimáticos intracelulares (autólisis) (Dawson y Sia, 1931); y d) el establecimiento de un método cuantitativo para determinar la actividad de las diferentes fracciones involucradas en la transformación. Segundo, la preparación cuidadosa de la purificación de una estirpe de laboratorio del principio activo de transformación, el neumococo Tipo III: a) inactivación enzimática mediante calentamiento; b) la extracción de las células muertas a ser utilizadas; c) la erradicación de residuos proteínicos y la remoción por

digestión enzimática de la cápsula de polisacáridos; d) la obtención de las fracciones puras del material activo; y e) el efecto de la temperatura (temperaturas mayores facilitan la extracción del principio activo, pero la actividad se preserva mejor a temperaturas menores). Tercero, el análisis químico del material puro responsable de la transformación, mediante: a) propiedades físicas; b) pruebas cualitativas que resultan ser fuertemente positivas de la existencia de ADN y poco positivas de presencia de ARN; c) la composición química elemental (la proporción de nitrógeno-fósforo es consistente con ADN y con la presencia poco probable de proteína); d) el análisis enzimático demuestra que el principio activo no es ARN ni proteína y que la digestión enzimática de ADN inactiva el principio activo, proveyendo fuerte evidencia de que el principio activo es un ácido nucleico del tipo ADN; y e) los análisis fisicoquímicos (ultracentrifugación, electroforesis y espectrografía ultravioleta) indican, dentro de los límites metodológicos, que las fracciones activas no contienen proteínas, grasas, ni azúcares y son características de los ácidos nucleicos.

La introducción de los autores, inicia de la siguiente manera:

The present study deals with the results of an attempt to determine the chemical nature of the substance inducing specific transformation of pneumococcal types. A deoxyribonucleic acid fraction has been isolated from Type III pneumococci which is capable of transforming unencapsulated R variants derived from Pneumococcus Type II into a fully encapsulated Type III cells (p. 152).

Sobre la posible generalización de los resultados, los autores mencionan que a pesar de que el estudio se limita a un caso particular de transformación de tipos (i.e., Tipo II a III), estos adquieren una mayor significancia dentro del contexto general de las investigaciones de la época sobre la transformación serológica de una diversidad de tipos de neumococos.

Los siguientes comentarios demuestran una actitud científica bastante cautelosa de parte de Avery y asociados (1944) (todos los *énfasis* subsiguientes son del autor de este ensayo): 1) “From the point of view of the phenomenon in general, therefore, it is of special interest that in the example studied, highly purified and protein-free material consisting largely, *if not exclusively*, of desoxyribonucleic acid is capable of stimulating [transformation of type] (p. 152); y 2) “The inducing substance, on the basis of its chemical and physical properties, *appears to be* a highly polymerized and viscous form of sodium desoxyribonucleate” (p. 152).

No obstante, a continuación, los autores pasan a ser mucho más asertivos; a saber: 1) “The experimental data presented in this paper *strongly suggest* that nucleic acids, at least those of the desoxyribose type, possess different specificities as evidenced by the selective action of the transforming principle” (p. 152); y 2) a pesar de reconocer que la significancia inmunológica de los ácidos nucleicos no había sido todavía del todo demostrada, “it appears that the techniques employed in the study of transformation *are the only ones available at present* for testing possible differences in the biological behavior of nucleic acids” (p. 153).

En relación al aspecto genético de la transmisión de características durante el proceso de transformación bacteriana, luego de reconocer que cualquier interpretación de los mecanismos involucrados, en dicho momento histórico, son por necesidad puramente teóricos, aseveran que las alteraciones inducidas están definitivamente correlacionadas con el desarrollo de una nueva estructura morfológica y la adquisición consecuente de nuevas propiedades antigénicas e invasivas. Y concluyen lo siguiente: “Equally if not more significant is the fact that these changes are predictable, type-specific, and heritable” (p. 154).

Antes de presentar una conclusión final positiva de las implicaciones de la investigación, Avery y asociados (1944), vuelven a asumir la actitud discreta científica mencionada, rayando en conservadurismo: “It is of course, possible that the biological activity of the substance described is not an inherent property of the nucleic acid but it *is due to minute amounts of some other substance* adsorbed to it or so intimately associated with it as to escape detection” (p. 155). Para matizarla nuevamente de forma asertiva: “If, however, the biologically active substance isolated in highly purified form as the sodium salt of desoxyribonucleic acid actually proves to be the transforming principle, as the *available evidence strongly suggest*, then...” (p. 155). El final de la discusión es evidencia de una actitud propiamente científica, al indicar la necesidad de estudios confirmatorios.

La conclusión final del artículo es la siguiente: “The evidence presented supports the belief that a nucleic acid of the desoxyribose type [ADN] is the fundamental unit of the transforming principle of *Pneumococcus Type III*” (p. 156).

### **Algunos comentarios en torno a los hallazgos de Avery y colaboradores**

La discusión de los resultados por los autores evidencia la presencia de dos tipos de actitudes

científicas: una, discreta y cautelosa (incluso de cierta autocensura) y otra, de índole más asertiva. La actitud cautelosa o conservadora puede explicarse como una medida anticipatoria de cuestionamientos críticos vinculados a las creencias científicas predominantes de la época (i.e., el dogma de las proteínas), al contexto institucional del Instituto Rockefeller (e.g., la oposición interna del bioquímico Alfred E. Mirsky; Olby, 1974/1994), e incluso a las reacciones, al parecer adecuadas, del editor de la revista del mismo Instituto (Peyton Rous, quien interesantemente dio instrucciones de archivar la copia anotada bajo la rúbrica de: “Please file under genetics”; McCarty, 1985, p.169). Hoy en día, a la hipótesis (sostenida principalmente por Mirsky) de que el material experimental de Avery y asociados (1944) estaba contaminado con proteínas, se le da poco peso—y la considero más un aspecto psicosocial de rechazo y un claro ejemplo de resistencia paradigmática. Sobre la actitud científica discreta y cautelosa de Avery y asociados (1944), Rudolf Hausmann (2002), biólogo de la Universidad de Freiburg, Alemania, la ha defendido de la siguiente manera: “the Project was an utmost thorough and undisputable piece of research... Avery’s work deservedly represents an example of conscientious research and technical competence” (p. 109). Independientemente de dichas actitudes, el hallazgo principal de Avery y asociados, en 1944, es incuestionable: a partir de la definición del problema, la metodología utilizada, los resultados obtenidos y las inferencias realizadas, esto es, del peso empírico y teórico del estudio, la substancia responsable del principio de transformación bacteriana es un ácido nucleico, el ADN. A tal conclusión se puede llegar, tanto si uno mira el artículo en sí mismo y hace abstracción del contexto sociológico científico de la época (la resistencia paradigmática), como si la mirada fuera una atribución del significado histórico seminal del estudio.

Como destaca el biólogo molecular James Darnell (2011), hay evidencia de que, tan temprano como el 1943, antes de la publicación del estudio seminal de 1944, Avery estaba convencido de lo siguiente: “that the TP [Transforming Principle] was DNA and therefore that DNA was capable of changing the enzymatic functioning of cells” (p. 45). Avery, en su informe anual (enviado para mediados de abril de 1943) a la Junta de Directores Científicos del Instituto Rockefeller, menciona lo siguiente:

Assuming that the sodium deoxyribonucleic acid and the active principle are one and the same substance, then the transformation from R  $\square$  SIII represents a change that is chemically induced and specifically directed by a known chemical compound... Thus,

the transforming principle—a nucleic acid—and the end product of the synthesis it evokes—the Type III capsular polysaccharide—are each chemically distinct and both are requisite in the type specific differentiation of the cell of which they form a part. The former has been likened to a gene, the latter to a gene product, the accession of which is mediated through enzymatic synthesis... If the present studies are confirmed and the biologically active substance isolated in highly purified form as the sodium salt of deoxyribonucleic acid actually proves to be the transforming principle, as the available evidence now suggests, then nucleic acids of this type must be regarded not merely as structurally important but as functionally active in determining the biochemical activities and specific characteristics of pneumococcal cells. (McCarty, 1985; pp. 154-155)

Al tomar en cuenta, tanto las conclusiones del artículo de 1944—y, en particular, la rigurosa metodología utilizada por los autores—, así como las de este informe predecesor de 1943, deberían quedar pocas dudas del significado trascendental del hallazgo de Avery y colaboradores: primero, el ADN es la substancia biológicamente activa del principio de transformación bacteriana, y segundo—incluso desde una interpretación conservadora del fenómeno para la época—la evidencia recopilada indica que el ADN es el material genético. Me parece justa la sucinta y sugestiva (por la referencia a las proteínas) apreciación de Aaron J. Ihde (1964), en su monumental historia del desarrollo de la química moderna, en la que afirma lo siguiente:

There was much confusion regarding the nature and function of RNA and DNA. In 1944 O.T. Avery, Colin M. MacLeod, and Maclyn McCarty of Rockefeller Institute produced evidence that the transformation of genetic information of pneumococcal types is due not to transmission of genetic information by proteins but to transmission by a specific DNA. (p.552)

En un artículo confirmatorio con neumococos de Tipo III, McCarty y Avery (1946), aseveran que la evidencia acumulada deja poca duda que la habilidad de un extracto de neumococo para inducir la transformación depende de la presencia de “a highly polymerized and specific form of desoxyribonucleic acid, and that this constituent is the fundamental unit of the transforming principle” (p. 94). Todavía más, descartan la objeción, a base de evidencia específica, de que el ácido nucleíco sirva como un “carrier for some hypothetical substance, presumably protein, which possesses the specific transforming activity” (p. 94).

Podemos pasar, entonces, a la discusión central de este ensayo respecto a si el recibimiento escéptico, e indiferente, y controvertido al hallazgo singular de Avery, MacLeod y McCarty

(1944) es resultado de lo que el geneticista Gunther S. Stent (1972a, b) ha llamado un ejemplo de descubrimiento prematuro, o si la oposición científica al mismo es más bien resultado de un caso de resistencia paradigmática de la época.

### **La noción de resistencia paradigmática**

En su obra seminal, *The Structure of Scientific Revolutions*, el historiador y filósofo de la ciencia Thomas S. Kuhn (1962) caracterizó, de inicio, la noción de “paradigma científico” de la siguiente manera: “universally recognized scientific achievements that for a time provide model problems and solutions to a community of practitioners” (p. x). Para Kuhn, tales logros se podían asociar a dos características esenciales: a) “their achievement was sufficiently unprecedented to attract an enduring group of adherents away from competing modes of scientific activity”, y b) “it was sufficiently open-ended to leave all sorts of problems for the redefined group of practitioners to resolve” (p. 10).

Debido a los múltiples usos que se le han atribuido a la noción de paradigma, posteriormente, en el *Postscript* a la edición del cincuenta aniversario de la obra, Kuhn (1962/2012) define la noción de “comunidad científica” como los practicantes de una especialidad científica. Los paradigmas, en dicha reformulación, son parte de una matriz disciplinaria donde sus miembros tienen en común o comparten un conjunto de elementos. Dichos componentes son los siguientes: a) generalizaciones simbólicas de caracteres lógico-matemáticos o teóricos (e.g., leyes de la disciplina), b) aspectos metafísicos o creencias compartidas (e.g., modelos), c) valores compartidos que, principalmente, emergen en situaciones de crisis o de cuestionamientos serios a la “ciencia normal” de la disciplina, y d) compromisos compartidos. En el *postscript*, Kuhn se refiere al concepto de paradigma de la siguiente manera: “The paradigm as shared example [or “exemplar” or “standard example”] is the central element of what I now take to be the most novel and least understood aspect of this book” (p. 186).

En su ensayo, “Second Thoughts on Paradigms”, Kuhn (1977), destaca la proximidad conceptual del término de paradigma con el de comunidad científica; esto es “the practitioners of a scientific specialty” (pp. 294-296)—o de “matriz disciplinaria”. En el mismo ensayo, Kuhn distingue entre usos de naturaleza local del concepto (diversos tipos de “exemplars”) y un sentido global del mismo. Según Ian Hacking (2012), el sentido global y más originario del concepto (i.e., de “paradigma o conjunto de paradigmas”) es el siguiente: “constituted by

various kinds of commitment and practices, among which he emphasizes generalizations, models, and exemplars” (p. xxiv). La coherencia y unidad de la matriz disciplinaria es un aspecto esencial del desarrollo del concepto de paradigma. De acuerdo a Paul Hoyningen-Huene (1989/1993), los paradigmas, en el sentido de ofrecer soluciones concretas a problemas de investigación, incluyen las nociones de leyes, teorías, modelos y valores compartidos como “momentos” paradigmáticos (p. 158).

Según Andrew Belsey (1996/2002), la noción Kuhniana de paradigma puede resumirse como: “el compromiso compartido por los miembros de una comunidad científica con una forma determinada de práctica científica”; y menciona que, muy a pesar de Kuhn, incluye cualquier compromiso teórico, filosófico o ideológico. Berent Enç (1995), resume la concepción inicial de paradigma de Kuhn (1962) de la siguiente manera: un conjunto de creencias científicas y metafísicas que conforman una estructura teórica a partir de la cual las teorías científicas pueden ser probadas y evaluadas y, de ser necesario, revisadas (p. 557). De acuerdo a Enç, quince años más tarde, Kuhn (1977) destaca dos ideas fundamentales del término: a) los elementos compartidos por la ciencia en su estado normal (i.e., la matriz disciplinaria); y b) las soluciones a problemas concretos (i.e., los "exemplars").

En el pensar la cuestión planteada en este ensayo en torno al descubrimiento de Avery y colaboradores, desarrollé la idea de que en vez de ser este un caso de descubrimiento prematuro, el mismo podría ser más bien un ejemplo de “resistencia paradigmática”. Por este último término me refiero a la dificultad de una comunidad científica (i.e., los miembros de una disciplina o conjunto de disciplinas relacionadas), en aceptar determinados resultados científicos porque sus implicaciones no se conforman o ajustan a los postulados o aspectos esenciales de la teoría o paradigma dominante, y como consecuencia tales hallazgos son atajados, desatendidos, echados a un lado, o, incluso, olvidados. No son prematuros, porque el problema planteado (el *puzzle* Kuhniano), primero, ha sido parte del corpus empírico-teórico de una disciplina por cierto tiempo, y segundo, porque el mismo puede ser solucionado o aclarado mediante procedimientos técnicos existentes o validados empíricamente. Los hallazgos, por un lado, pueden ser, *en parte*, aceptados o defendidos por sectores o individuos particulares que pertenecen a una de las disciplinas o subdisciplinas de la comunidad de científicos de la época (a esto le llamo, recepción parcial o limitada). Mientras que, por otro

lado, sectores científicos *centrales* con un mayor peso ideológico e institucional, usualmente más poderosos e influyentes como grupo, persisten en ignorarlos o rechazarlos, precisamente porque intuyen o atisban las implicaciones contraparamétricas (el posible surgimiento de una crisis) que tienen tales hallazgos, de forma que trastocan y amenazan algún elemento esencial (*core*) del paradigma prevaiente (a esto le llamo, recepción controvertida).

### **El paradigma de las proteínas**

El concepto de “paradigma de las proteínas” ha sido claramente elaborado por la historiadora Lily E. Kay (1993), en su libro, *The molecular vision of life. Caltech, the Rockefeller Foundation, and the rise of the new biology*. Con anterioridad, el historiador Robert Olby (1974/1994) denominó la misma, “The Protein Version of the Central Dogma”, y la caracterizó de la siguiente manera: “according to this theory biological specificity flowed from the proteins, the subtle variety of which was due to their amino acid sequences” (p. 74).

De acuerdo a Kay (1993), el interés en los aspectos fisiológicos de la genética durante los 1930s, estimuló la formación de enlaces entre los estudios de función genética y el análisis de la composición y estructura de genes y cromosomas. Estas nuevas estrategias cognoscitivas fueron apoyadas y sustentadas, financiera e institucionalmente por la Rockefeller Foundation—quien sirvió como el principal patrocinador del proyecto de biología molecular en Caltech—lo cual propició la cooperación interdisciplinaria entre geneticistas estadounidenses con bioquímicos y biofísicos. Según Kay (1993):

...these convergences were based on the protein paradigm, on the dominant explanatory framework that endowed proteins with determinate powers over heredity and related vital phenomena. Most life scientists, whether explicitly or tacitly, subscribed to the protein view of life; and a coalescence of cognitive interests and institutional dynamics sustained the authority of the protein paradigm until the early 1950s. (p. 104)

Durante las primeras cuatro décadas del siglo 20, las explicaciones físico-químicas del gen y su modo de acción (constancia, cambio y regulación) se construyeron principalmente dentro del marco de referencia explicativo de la visión proteica de la vida. Según Kay (1993), de acuerdo a esta visión, “proteins formed the physical bases of life and were the principal determinants of reproduction, growth, and regulation” (p. 107). La autora destaca que esta visión constituía un concepto dominante que definía o determinaba “the mainstream of heredity

research” (p. 107).

Contrario al vigoroso programa de investigación de las proteínas, la investigación estadounidense sobre los ácidos nucleicos era, en palabras de Kay (1993), “negligible”. Paradójicamente, los estudios más importantes en la identificación de estos compuestos, por Phoebus A. T. Levene en el Instituto Rockefeller, llevaron a la trivialización de su función fisiológica. Levene construyó teóricamente la “hipótesis tetranucleótida”, anunciada en los 1920s, que sugería que los ácidos nucleicos tenían escasa variabilidad para sostener especificidad biológica. Según Kay (1993): “By 1930 biochemists had come to regard nucleic acids as simple, uninteresting substances, incompatible with the complexities of genetic functions: replication, mutation, cellular regulation, and organismic development” (p. 111). Incluso, las teorías enzimáticas (y las enzimas visualizadas como proteínas formidables), basadas en propiedades autocatalíticas de reproducción de las proteínas, que prevalecieron algún tiempo en el centro de la investigación hereditaria y que llevaron a la conceptualización del gen como una súper enzima a mediados de los 1930s, cedieron finalmente ante el impulso institucional y financiero de la investigación proteínica. Kay (1993) menciona que desde los 1930s hasta inicios de los 1950s, “protein chemistry marked the vanguard of diverse researches subsumed under the term ‘molecular biology’” (p. 112).

Kay (1993) no hace mucha mención del artículo de Avery y colaboradores de 1944, con la excepción de lo siguiente que amerita citarse extensamente:

Although proteins were Caltech’s primary focus, by 1945 Pauling and Beadle acknowledged the potential significance of nucleic acids, especially in relation to the gene problem. The gene was generally regarded as a nucleoprotein, and with the impact of Oswald Avery’s 1944 discovery of the “transforming principle” it was increasingly clear that chemical and structural studies of nucleic acids could illuminate the problem of reproduction. This area too was a still a “paper project” and required assembling a group headed by a nucleic acids specialist, a rare breed in United States. Ironically, Columbia’s biochemist Erwin Chargaff, who, inspired by Avery’s discovery, had just embarked on chromatographic analyses of nucleic acids, was anxious to join Caltech’s program. Pauling’s... effectively closed that line of enquiry; neither the project nor the candidate received priority consideration. A nucleic acids team was not assembled until the 1950s. (p. 231)

Olby (1974/1994) considera que con el paso del tiempo el trabajo de Avery, MacLeod y McCarty luce cada vez más significativo; y piensa que quizás fue el evento más importante

para socavar históricamente la preeminencia del paradigma de las proteínas. Olby (1974/1994) menciona que cuando un descubrimiento como el de Avery y asociados (1944) cuestiona el paradigma existente, como el de las proteínas, uno esperaría una reacción defensiva de parte de la comunidad de científicos. Sin embargo, en su opinión, el descubrimiento de Avery y colaboradores: “was not neglected, not rejected, and not rediscovered” (p. 195). No obstante, Olby postula que dicho trabajo marcó una especie de revolución científica a lo Kuhn. En este respecto, Olby (1974/1994) dice lo siguiente sobre el hallazgo de Avery y colaboradores:

One does not find scientists describing a discovery as “revolutionary” every day of the week. This discovery was special. It demanded a re-examination of the Protein Version of the Central Dogma and of the tetranucleotide hypothesis. It suggested there must be hidden in the molecules of nucleic acids chemical specificities as rich as those of proteins. The debate over bacterial transformation therefore marks as Kuhnian a revolution... (p. 204)

Resulta paradójico que un hallazgo científico trascendental como el de Avery y colaboradores, que cuestiona y socava los elementos fundamentales de un paradigma tan poderoso en su época como el de las proteínas, no genere la reacción que el mismo Olby opina debe provocar. En general, la literatura sobre esta cuestión evidencia que si bien el descubrimiento de la sustancia biológicamente activa del principio de transformación estimuló a un grupo de científicos eventualmente prominentes (e.g., Erwin Chargaff, Joshua Lederberg, James Watson), otros, como las comunidades de geneticistas (Stent, 1972a, b) y biofísicos (e.g., “Phage School”), al menos no le prestó la importancia que merecía pues se aferraban al paradigma dominante de las proteínas. Tanto la perspectiva de Olby, como las reacciones de los científicos de la época, me llevan a pensar que la resistencia paradigmática al trabajo de Avery y colaboradores puede matizarse con mayor precisión desde la perspectiva de la noción Kuhniana de matriz disciplinaria. La resistencia a los hallazgos de Avery y colaboradores, o la recepción escéptica y controvertida de los mismos, tiene características claras de reacciones divergentes por parte de miembros de diferentes disciplinas y subdisciplinas.

### **El planteamiento de descubrimiento prematuro**

La noción de “descubrimiento prematuro” fue desarrollada por Stent (1972a, b) ante la crítica hecha por el científico y editor Carl Lamanna de que, en un ensayo sobre los orígenes de la biología molecular, Stent no mencionó ni el nombre de Avery ni el “DNA-mediated bacterial

transformation”. Stent, aceptando su omisión y la naturaleza del mismo (“I agreed that I should have really mentioned in my essay Avery’s proof in 1944 that DNA is the hereditary substance”, 1972a, p. 23), pero insistiendo que, en su opinión, el crecimiento de la genética molecular no dependió de la prueba de Avery, elaboró la siguiente reflexión en torno al descubrimiento de Avery: a) la prueba de Avery tuvo, en su momento, sorprendentemente, poco impacto sobre los geneticistas, tanto clásicos como moleculares; b) no fue hasta el experimento de Hershey y Chase en 1952 cuando dicha comunidad de científicos vino a enfocar en el ADN; c) la razón para este retraso en el reconocimiento de la prueba de Avery no fue que su trabajo no se conociera, ni se desconfiara del mismo, ni que el experimento de Hershey-Chase fuera técnicamente superior; d) sino que el mismo era un “descubrimiento prematuro”. Stent procedió, entonces, a presentar su definición de prematuro: “A discovery is premature if its implications cannot be connected by a series of simple logical steps to canonical, or generally accepted, knowledge” (1972b, p. 84).

Stent se preguntó, a continuación, porqué el descubrimiento de Avery no satisfacía el criterio de conectividad; su explicación es como sigue: a) para el 1944, ya se sospechaba que el ADN tenía alguna función en los procesos hereditarios—desde que Feulgen y Rossenbeck (1924), mediante métodos de microscopía química, habían demostrado que el mismo era un componente principal de las cromosomas; b) pero la visión de la naturaleza molecular del ADN de la época (i.e., “a monotonously uniform macromolecule”) hacía inconcebible que esta substancia pudiera ser la portadora de la información genética; c) al contrario, “it was usually to the chromosomal protein that the informational role of the genes had been assigned” (Stent, 1972b, p. 85); d) no fue hasta el 1950, principalmente, por el trabajo de Erwin Chargaff sobre las bases de los nucleótidos, que la hipótesis tetranucleótida de los ácidos nucleicos fue descartada; y e) por ende, cuando dos años después se presenta el experimento de Hershey y Chase, “it was now posible to connect their conclusion that DNA is the genetic material with canonical knowledge” (Stent, 1972a, p. 25).

### **¿Descubrimiento prematuro o resistencia paradigmática?**

Interesantemente, la misma explicación de Stent (1972a, b) en torno al experimento de Avery, plantea la posibilidad alterna de que el escepticismo evidenciado, particularmente entre los geneticistas y biofísicos, ante el descubrimiento de Avery y colaboradores, se debiera,

principalmente, al papel que jugaba en la época el paradigma predominante de la teoría de las proteínas. Para Stent (1972a, b) la prueba de Avery de 1944, consistió, como él mismo admitió, en que el ADN era la sustancia hereditaria. Y tal prueba no fue aceptada, tanto por la visión limitada no específica que se tenía del ADN para la época (i.e., la hipótesis tetranucleótida), como por la predominancia del dogma de las proteínas (Olby, 1974/1994; Kay, 1993).

Sostenemos, que la mejor explicación (i.e., sustancial y comprensiva) para la verdadera *resistentia, reticentia* (lat.) en el proceso de aceptación de los hallazgos del estudio de Avery y colaboradores, por parte de ciertas comunidades de científicos de la época, no se encuentra, meramente, en la *inconexión* lógica de los resultados experimentales con los postulados y elementos de la teoría dominante de las proteínas, sino, fundamentalmente, en su carácter real de *negación*, o sea, sus implicaciones contraparamigmáticas. Esto es, que, precisamente, dichos resultados estaban encontrados de manera decisiva con el paradigma prevaleciente. En su momento, las implicaciones claras de los hallazgos de Avery representaban, tanto el cuestionamiento de la teoría predominante de las proteínas, como la posibilidad de provocar fractura o fisura en el núcleo de la misma (crisis). Retrospectivamente, significó, sin duda, el evento singular del comienzo de un proceso histórico de cambios científicos revolucionarios, que desembocarían, una década más tarde, en la eventual sustitución del paradigma de las proteínas por el nuevo paradigma emergente de la biología molecular. Hay que recordar, que, dentro del *puzzle* Kuhniano de la época, el problema fundamental que Avery y sus colaboradores se propusieron y lograron resolver (i.e., el enigma del principio de transformación), primero, había sido parte del corpus empírico-teórico de las disciplinas de la bioquímica y la biomédica por largo tiempo, y, segundo—como la rigurosidad metodológica del mismo experimento demuestra—el mismo logró ser solucionado mediante procedimientos técnicos existentes o validados empíricamente. Por estas razones, se le denomina un “descubrimiento científico”; pero, también, por estas mismas razones, no fue prematuro.

Siempre se puede contra-argumentar que ambos factores (i.e., la resistencia paramigmática y la ausencia de conectividad) pudieran estar íntimamente relacionados; pero si lo están es porque “lógicamente” (a la manera de Stent) la *inconexión* significa realmente una contradicción. O sea, la falta de conectividad canónica es un reflejo y evidencia de contraposición y eventual reclamo de refutación paramigmática. El descubrimiento de Avery y

colaboradores, no tan solo chocaba con el canon establecido, sino que cuestionaba y confrontaba el paradigma predominante de la época. Si fue ignorado, particularmente por los geneticistas de la época, era, precisamente, porque estos se encontraban ofuscados por el paradigma dominante de la naturaleza proteínica del gen.

El significado trascendental del descubrimiento de Avery y asociados (1944), fue atajado (e.g., por las objeciones intrigantes de Mirsky), desatendido (e.g., por el grupo de los fagos y gran parte de los geneticistas); y olvidado (incluso, inicialmente, por el mismo Stent)—en fin, fue históricamente *resistido*, porque era esencialmente *contrario* al paradigma dominante; y no meramente por la *ausencia de conectividad* de sus elementos con el canon establecido.

## **Conclusión**

El estudio seminal de Avery y colaboradores cuestionaba los dos aspectos centrales del paradigma dominante al demostrar experimentalmente que el ADN tenía especificidad biológica y que el ADN era la substancia biológicamente activa de la transformación celular, no las proteínas. Desde esta perspectiva, los hallazgos del grupo de Avery vendrían, entonces, a verse como un elemento vital dentro de un proceso de transición hacia un nuevo paradigma: la hegemonía moderna del ADN. Las implicaciones para el conocimiento canónico (el paradigma de las proteínas) no serían entonces de una mera falta de conexión, sino de contraposición y reclamo por una revisión teórica profunda.

Por ende, la recepción, por un lado, escéptica, y por otro lado, controvertida, de la demostración experimental por Oswald T. Avery, Colin M. McLeod y Maclyn McCarty, en 1944, sobre la naturaleza genética del ADN, y esta, como la substancia biológicamente activa del principio de transformación, puede considerarse un ejemplo histórico de resistencia científica paradigmática de parte de los representantes de la teoría predominante de la época. Esta concepción de resistencia paradigmática, integrada al análisis dinámico de la fisura crucial que se creó en una vieja teoría científica, abre, a nuestro parecer, un camino histórico y filosófico prometedor de mirar, pensar y comprender el surgimiento de una verdadera revolución en la biología y la medicina.

En este trabajo, por un lado, se cuestionaron ciertos aspectos de insuficiencia presentes en la argumentación sostenida en torno a la aplicación de la noción de “descubrimiento prematuro”

al caso histórico de Avery y colaboradores; sin embargo, aún resulta meritorio examinar esta noción en sí misma, e indagar de qué modo, si alguno, nos puede ayudar a interpretar y comprender un determinado acontecimiento y una época científica. Por otro lado, en este ensayo se introdujo la noción histórica-filosófica de “resistencia paradigmática” y se planteó que la misma constituye una explicación más sustantiva y comprensiva del caso en cuestión.

En trabajos futuros, sería interesante ampliar el marco de referencia contextual del análisis para incluir el examen del experimento de Hershey y Chase de 1952, que ofreció la prueba definitiva del carácter universal o general de los hallazgos de Avery (Beadle y Beadle, 1966)—y en el cual, interesantemente, no aparece citado el artículo de Avery y asociados de 1944. De esta manera, se puede contrastar la acogida inmediata que este tuvo, con la resistencia que confrontó el hallazgo singular de Avery y colaboradores. Albert Hershey ganó el Premio Nobel en Fisiología y Medicina, en 1969, junto a Salvador Luria y Max Delbrück, por sus descubrimientos sobre la replicación de los virus y su estructura genética. Ni Oswald T. Avery, por sus aportaciones a la inmunoquímica y por su descubrimiento del ADN como el material genético, ni tampoco Martha Chase, coautora del experimento de 1952, recibirían este tipo de reconocimiento.

Históricamente, quedaba todavía por dilucidarse la estructura del ADN y sus mecanismos de acción genética (Watson y Crick, 1953a, b), para que reinara en todo su esplendor un nuevo paradigma científico.

## Referencias

- Alloway, J.L. (1932). The transformation in vitro of R pneumococci into S forms of different specific types by the use of filtered pneumococcus extracts. *Journal of Experimental Medicine*, 55, 91-99.
- Alloway, J.L. (1933). Further observations on the use of pneumococcus extracts in effecting transformation of type in vitro. *Journal of Experimental Medicine*, 57, 265-278.
- Amsterdamska, O. (1993). From pneumonia to DNA: The research career of Oswald T. Avery. *Historical Studies in the Physical and Biological Sciences*, 24, 1-40.
- Austrian, R. (1960). The gram stain and the etiology of lobar pneumonia, an historical note. *Bacteriological Review*, 24, 261-265.
- Austrian, R. (1967). Lobar pneumonia. En H. McGehee & V.A. McKusick (Eds.), *Osler's*

*Textbook Revisited* (pp. 75-103). New York: Appleton-Century-Crofts.

Avery, O.T. & Heidelberger, M. (1923). Immunological relationships of cell constituents of pneumococcus. *Journal of Experimental Medicine*, 38, 81-85.

Avery, O.T., MacLeod, C.M., & McCarty, M. (1944). Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from Pneumococcus Type III. *Journal of Experimental Medicine*, 79, 137-158.

Beadle, G. & Beadle, M. (1966). *The language of life. An introduction to the science of genetics*. New York: Doubleday.

Belsey, A. (1996/2002). Paradigma (*paradigm*). En M. Payne, Director (P. Wilson, Trans.), *Diccionario de teoría crítica y estudios culturales* (p. 515). Buenos Aires: Paidós.

Berry, G.P. & Dedrick, H.M. (1936). A method for changing the virus of rabbit fibroma (Schope) into that of infectious myxomatosis (Sanarelli). *Journal of Bacteriology*, 31, 50-51.

Buess, H. (1952). Joh. Friedrich Miescher and the contribution of Basle physicians to the biology of the nineteenth century. *Yale Journal of Biology and Medicine*, February, 250-261.

Dahm, R. (2010). From discovering to understanding. Friedrich Miescher's attempts to uncover the function of DNA. *EMBO reports*, 11, 153-160.

Darnell, J. (2011). *RNA. Life's indispensable molecule*. Cold Spring Harbor, New York.

Darwin, C. (1859/2003). *On the origin of species and The voyage of the Beagle* (With an introduction by Richard Dawkins). New York: Everyman's Library, Alfred A. Knopf.

Dawes, H. (2004). The quiet revolution. *Current Biology*, 14, R605-R607.

Dawson, M.H. (1928). The interconvertibility of 'R' and 'S' forms of pneumococcus. *Journal of Experimental Medicine*, 47, 577-591.

Dawson, M.H. (1930). The transformation of pneumococcal types. II. The interconvertibility of type-specific pneumococci. *Journal of Experimental Medicine*, 51, 123-147.

Dawson, M.H. & Sia, R.H.P. (1931). In vitro transformation of pneumococcal types. I. A technique for inducing transformation of Pneumococcal types in vitro. *Journal of Experimental Medicine*, 54, 681-699.

Dochez, A.R. & Avery, O.T. (1917). The elaboration of specific soluble substance by

pneumococcus during growth. *Journal of Experimental Medicine*, 26, 477-493.

*Dorland's Pocket Medical Dictionary* (1982). (Twenty-Third Ed., K. McCullough, Ed.) Philadelphia: W.B. Saunders.

Dubos, R.J. (1976). *The professor, the institute, and DNA. Oswald T. Avery, his life and scientific achievements*. New York: The Rockefeller University Press.

Enç, B. (1995). Paradigm. En R. Audi (Ed.), *The Cambridge Dictionary of Philosophy* (pp. 557-558). Cambridge, MA: Cambridge University Press.

Falk, R. (2009). *Genetic analysis. A history of genetic thinking*. Cambridge, MA: Cambridge University Press.

Feulgen, R. y Rossenbeck, H. (1924). "Mikroskopisch-chemischer Nachweis einer Nucleinsäure vom Typus der Thymonucleinsäure und die darauf beruhende elective Färbung von Zellkernen in mikroskopischen Präparaten." *Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem.*, 135, 203-248.

Griffith, F. (1928). The significance of pneumococcal types. *Journal of Hygiene*, 27, 113-159.

Hacking, I. (2012). Introductory essay. En T.S. Kuhn (1962/2012), *The structure of scientific revolutions* (Fourth Ed., pp. vii-xxxvii). Chicago: The University of Chicago Press.

Hausmann, R. (2002). *To grasp the essence of life. A history of molecular biology* (C. Hausmann & R. Hausmann, Trans.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

Hershey, A.D. & Chase, M. (1952). Independent functions of viral protein and nucleic acid in growth of bacteriophage. *Journal of General Physiology*, 36, 39-56.

Hook, E.B., ed. (2002). *Prematurity in scientific discovery. On resistance and neglect*. Berkeley: University of California Press.

Hoyningen-Huene, P. (1989/1993). *Reconstructing scientific revolutions. Thomas S. Kuhn's philosophy of science* (A.T. Levine, Trans.). Chicago: The University of Chicago Press.

Ihde, A.J. (1964). *The development of modern chemistry*. New York: Harper & Row.

Jacob, F. (1970/1973). *The logic of life. A history of heredity* (B.E. Spillman, Trans.). New York: Pantheon Books.

Kay, L.E. (1993). *The molecular vision of life. Caltech, The Rockefeller Foundation, and the rise of the new biology*. New York: Oxford University Press.

Kossel, A. (1910). The chemical composition of the cell nucleus. En *Nobel lectures*,

*Physiology or Medicine 1901-1921*. Amsterdam: Elsevier Publishing Co., 1967.

- Kuhn, T.S. (1962). *The structure of scientific revolutions*. Chicago: The University of Chicago Press.
- Kuhn, T.S. (1962/2012). Postscript—1969. *The structure of scientific revolutions* (Fourth Ed., pp. 173-208). Chicago: The University of Chicago Press.
- Kuhn, T.S. (1977). Second thoughts on paradigms. En *The essential tension. Selected studies in scientific tradition and change* (pp. 293-319). Chicago: The University of Chicago Press.
- Lagerkvist, U. (1998). *DNA pioneers and their legacy*. New Haven: Yale University Press.
- MacLeod, C.M. & Mirick, G.S. (1942). Quantitative determination of the bacteriostatic effect of the sulfonamide drugs on pneumococci. *Journal of Bacteriology*, 44, 277-287.
- McCarty, M. (1985). *The transforming principle. Discovering that genes are made of DNA*. New York: W.W. Norton.
- McCarty, M. & Avery, O.T. (1946). Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types. II. Effect of desoxyribonuclease on the biological activity of the transforming substance. *Journal of Experimental Evidence*, 83, 89-96.
- Mendel, G. (1865). Experiments in plant hybridization. (Based on First Trans. W. Bateson, 1901; Trans. R. Blumberg) Read at the February 8<sup>th</sup>, and March 8<sup>th</sup>, 1865, meetings of the Brün Natural History Society.
- Miescher, F. (1871). "Über die chemische Zusammensetzung der Eiterzellen." *Hoppe-Seyler's medicinich-chemische Untersuchungen*, 4, 441-460.
- O'Connor, C. (2008). Discovery of DNA as the hereditary material using *Streptococcus pneumoniae*. *Nature Education*, 1, 1-5.
- Olby, R. (1974/1994). *The path to the double helix. The discovery of DNA*. New York: Dover Publications.
- Osler, W. (1909). *The principles and practice of medicine*. New York: D. Appleton.
- Stent, G.S. (1972a). Prematurity and uniqueness in scientific discovery. *Advances in the Biosciences*, 8, 433-449. [Versión acotada en: Hook, E.B. ed., 2002, pp. 22-33.]
- Stent, G.S. (1972b). Prematurity and uniqueness in scientific discovery. *Scientific American*, 227, 84-93.

Sturtevant, A.H. (1965). *A history of genetics*. New York: Harper & Row Publishers.

Watson, D.A., Musher, D.M., Jacobson, J.W., & Verhoef, J. (1993). A brief history of the pneumococcus in biomedical research: A panoply of scientific discovery. *Clinical Infectious Diseases*, 17, 913-924.

Watson, J.D. y Crick, F.H.C. (1953a). Molecular structure of nucleic acids: a structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171, 737-738.

Watson, J.D. y Crick, F.H.C. (1953b). Genetical implications of the structure of deoxyribose nucleic acid. *Nature*, 171, 964-967.



La Revista Umbral de la Universidad de Puerto Rico Recinto de Río Piedras está publicada bajo la [Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).