

## IDEAS SOBRE EL POSIBLE USO DE LA PANCREATINA EN LA BACTERIOLOGIA DEL BACILO DE HANSEN

*Arturo O'Byrne Director del Dispensario antileproso del Valle.*

Inició estas "ideas" transcribiendo lo relativo a la "Constitución química del bacilo de la lepra" por Jeanselme.

"Emprendido este estudio por P. G. Unna y sus alumnos, este estudio ha sido continuado por su hijo mediante la aplicación del método llamado "Leprahaacks" que consiste en tomar fragmentos cutáneos sobre lesiones lepromatosas, reducirlos a polvo, mezclarlos con agua destilada, centrifugar el líquido lechoso así obtenido y extender el sedimento sobre portaobjeto. El éter y el cloroformo producen el alargamiento, el crecimiento o aumento de volumen, el estado sinuoso o la reducción de volumen del cuerpo bacilar y determinan la formación de lagunas, lo que conduce a UNNA, junior, a admitir que en los bacilos se suceden alternativamente, partes, unas ricas y otras pobres en grasas. La lejía de potasa ejerce, en general, una acción mucho más intensa. Hace desaparecer los bacilos en un tiempo relativamente corto. Los granos de LUTZ resisten durante mucho mayor tiempo a los procedimientos de extracción que las otras partes del bacilo.

Resulta de estas investigaciones que las grasas neutras entran en pequeña cantidad en los bacilos y que los ácidos grasos existen en mayor abundancia, sobre todo los ácidos grasos *fusibles a un grado superior* (ácidos palmítico y oléico). Los ácidos grasos no están combinados con la colessterina; en verdad, ellos se encuentran en estado libre, sin embargo, están, en parte, representados por la lecitina, como parece resultar de la resistencia de los bacilos después de la acción de la acetona.

La ácido-resistencia y la alcohol-resistencia son dos propiedades que deben ser distinguidas cuidadosamente la una de la otra, ya que una permanencia prolongada en el alcohol decolora aún a los bacilos ácido-resistentes.

La ácido-resistencia es debida, sea a que el cuerpo bacilar, enteramente privado de sus ácidos grasos, es ácido-resistente por sí mismo, sea a que contiene alcoholes grasos neutros, difícilmente fusibles, cuya mezcla constituye las ceras.

En el sentido estricto del término, la ácido-resistencia es la facultad de retener las materias colorantes después de que los ácidos

han obrado sobre la preparación y después de que ésta ha sido lavada con agua, solamente.

La alcoholo-resistencia designa la facultad de retener la materia colorante después de un *largo tratamiento* por el alcohol.

Por medio de la extracción por el alcohol, el éter, el cloroformo, el benzol, se puede aislar las grasas ácido-resistentes pero nó las alcoholo-resistentes.

P. UNNA llega a una conclusión conforme a la concepción de su padre. La ácido-resistencia del bacilo de la lepra resulta de la mezcla íntima de los cuerpos grasos exclusivamente ácido-resistentes y de lo que subsiste del cuerpo bacilar después de la extracción de estos cuerpos grasos. Este resto está constituido, en verdad, sólo por cuerpos albuminoides y es solamente alcoholo-resistente.

Los granos de LUTZ consisten, principalmente, no en albúmina y en grasa, sino en hidratos de carbono, en un cuerpo análogo, sin duda, al glucógeno.

Según A. PALDROCK, los "gránula" están constituidos en su mayor parte, por el ácido nucleínico libre, mientras que en la envoltura y en el cuerpo bacilar predomina la nucleína (nucleoproteido). Este autor señala diferencias en la constitución química de los bacilos de la lepra y de la tuberculosis, de donde resultaría que los mismos agentes terapéuticos no tienen la misma acción en estas dos enfermedades.

Ya, HANSEN, NEISSER, habían recurrido al osmio. Pero, es sobre todo UNNA quien se ha servido de él en sus estudios sobre el tenor de los bacilos en grasa, y sobre la envoltura. Ha dado las dos fórmulas siguientes:

I. Fijación en la mezcla de FLEMING. Osmio-ácido ósmico-ácido acético, durante 24 a 28 horas. Lavado prolongado con agua corriente. Solución acuosa de safranina al uno por ciento durante medio minuto. Lavado. Empleo del alcohol absoluto para deshidratar. Anilina adicionada al uno por ciento de Pirogalol durante una noche. Los bacilos vivos se presentan en color oscuro-negro; los bacilos muertos en un tinte que va del amarillo al castaño oscuro; los núcleos se presentan rojos; las mitosis de un rojo oscuro; la grasa de las glándulas sebáceas, de las glándulas sudoríparas y del tejido subcutáneo, se presenta negra. La capa córnea, negra; el colágeno, de un gris rojizo.

II. METODO Osmio-Plata-Safranina. Los cortes permanecen durante 12 horas en la obscuridad en una "soucoupe" adicionada de dos gotas de una solución de nitrato de plata al uno por ciento. Lavar con agua destilada. Llevar a una solución de 10 a 20% del hiposulfito de sodio, durante 6 a 12 horas. Lavar con agua destilada. Poner los cortes durante 2 minutos en contacto con una solución acuosa al 1% de safranina. Lavar. Poner los cortes durante 10

minutos en una solución acuosa al 50% de tanino. Lavar bien. Alcohol, aceite y bálsamo. El baño de plata refuerza la acción del osmio sobre la grasa, pero produce precipitados que se disolverán por el hiposulfito de sodio. La acción de este reactivo, habiendo desembarazado las partes del bacilo menos impregnadas del osmio y de la plata en exceso, permite ver la figura de los granos reforzada y la de los bacilos atenuada. Los bacilos son gris negros. Los núcleos, rojo oscuros. La grasa de las glándulas sebáceas, de las glándulas sudoríparas, del tejido subcutáneo y la capa córnea de la epidermis aparece negra. El tejido colágeno, gris amarillento.

Según CEDERCREUTZ (de HEISINGFORS), los granos de substancia refringente contenidos en las células leprosas (cuerpos oscuros de Hansen) son poco visibles sobre preparaciones no coloreadas. No se ennegrecen de manera apreciable por el ácido ósmico. Son birrefringentes, se disuelven en el alcohol caliente y en el éter; se hacen más oscuros por la reacción de la Colesterina de UNNA y GOLODETZ; no se coloran por el FISCHLER; por el SCHARLACH ROT se ven rojo escarlatas y amarillos por el SUDAN III. En consideración de estos caracteres, CEDERCREUTZ considera como demostrado que las células de que se trata contienen Colesterina bajo una u otra forma.

En cuanto a la glea, ella es poco aparente en preparaciones no coloreadas. Ella no ennegrece bajo la acción del ácido ósmico; ella no es birrefringente; la reacción de UNNA y GOLODETZ es negativa y el Fischler la deja incolora. Con el Scharlach Rot se tiñe en rojo amarillo, con el Sudan III en amarillo, con el Ciaccio en anaranjado. De estas reacciones, CEDERCREUTZ saca la conclusión de que la glea está constituida, a lo menos en su mayor parte, por un Lipoide. El hecho de que la reacción de FISCHLER es negativa demuestra que esta substancia no contiene de manera notable, ni ácidos grasos ni jabones; las investigaciones han demostrado que las substancias grasas de la capa profunda de la glea son cuerpos isotropes, homogéneos, lipoides".

Hasta aquí Jeanselmeo.

Pasemos, ahora, a recordar la acción fisiológica del Páncreas sobre la digestión de las grasas: Dice HEDON en su fisiología respecto de este capítulo:

"JUGO PANCREATICO": Este jugo secretado por el páncreas es vertido en el canal excretor de esta glándula o canal de Wirsung, en la segunda porción del duodeno. Se pueden realizar digestiones artificiales in vitro con el jugo pancreático como el jugo gástrico. En lugar del jugo pancreático puede servirse de una infusión de páncreas. Moliendo en glicerina el páncreas de un animal tomado en plena digestión se obtiene un extracto dotado de un gran

poder digestivo. El jugo pancreático peptoniza los albuminoides, sacarifica los feculentos, emulsiones y saponifica las grasas.

**LA ACCION PEPTICA** sobre los albuminoides, descubierta por CORVISART y CL. BERNARD es debida a un fermento al cual KUHNE ha dado el nombre de TRIPISINA, que se puede extraer de las maceraciones de páncreas por diferentes procedimientos. Del mismo modo que la pepsina del estómago, la tripsina transforma los albuminoides en peptonas. Pero su modo de acción difiere del de la pepsina; en efecto, su poder digestivo se desarrolla al máximum *en un medio neutro o alcalino* y se encuentra impedido por un ácido, a la inversa de lo que sucede para la pepsina. Además, bajo su influencia, la digestión de las albúminas no se detiene en la formación de peptonas, sino que una parte de las peptonas es descompuesta en *ácidos aminados*: (leucina, tirosina, triptofano, cistina, etc).

Por una digestión suficientemente prolongada, las materias proteicas se resuelven completamente en cuerpos abiuréticos. Según los trabajos de FISCHER Y ABDERHALDEN, la digestión de las materias albuminoideas por la tripsina llega hasta una mezcla de polipéptidos y ácidos aminados. Esta dislocación de la molécula protéica, que puede ser comenzada en el estómago, bajo la acción de la pepsina, llega a ser completa en el intestino, bajo la acción de la *tripsina* y de otro fermento que mencionaremos más lejos, la erepsina del jugo intestinal.

De tal suerte, que el trabajo digestivo de los protéicos, que antiguamente se detenía, en la investigación, en el estado de peptona, es en realidad llevado mucho más adelante; es decir, que la molécula albuminoide es descompuesta en muy pequeños fragmentos y es en este estado ofrecida a la mucosa intestinal para su absorción.

**LA ACCION DIASTASICA** sobre los feculentos, descubierta por VALENTIN, es semejante a la de la saliva, pero mucho más enérgica. A la temperatura del cuerpo, el jugo pancreático mezclado al engrudo de almidón, produce azúcar de una manera casi instantánea y obra también sobre el almidón crudo. Este jugo pancreático contiene, pues, un fermento diastásico análogo a la ptialina de la saliva. Se le dá el nombre de Amilopsina.

**LA ACCION SOBRE LAS GRASAS**, es doble: EMULSION Y SAPONIFICACION. La propiedad emulsionante, ya comprobada por EBERLE, es de las más evidentes cuando se agita en un tubo un poco de aceite de olivas con jugo pancreático. Se obtiene instantáneamente un líquido *lechoso*, constituido, como la leche, por una infinidad de gotitas grasas, extremadamente ténues, que no pueden

volver a unirse para reformar la capa de aceite y así se encuentra formada una *emulsión persistente*.

Cuando se sacrifica a un animal en plena digestión, se nota que sus quilíferos son de color blanco lechoso. Este aspecto es debido a los finos glóbulos de grasa en suspensión en la linfa. El quilo es una emulsión. BERNARD hizo una notable experiencia: En el conejo, cuyo canal pancreático desemboca en el intestino, muy abajo del píloro, los quilíferos no son blanco lechosos durante la digestión sino a partir del punto de inserción del canal, lo que significa, claramente, que el jugo pancreático es indispensable para que la emulsión de las grasas se produzca. Esta propiedad emulsionante *se encuentra también en los vegetales*, en los granos aceitosos, las almendras, por ejemplo, que cuando se las tritura, dan una emulsión (loco blanco).

(Me permito, recordar al lector, en este punto de la exposición de Hedon, que los aceites de Chaulmoogra son extraídos de granos, oleaginosos, que deben tener igualmente *propiedad emulsionante* y que esta propiedad, una vez inyectado el aceite en el organismo leproso, puede conferirle a su suero sanguíneo la facultad de emulsionar la grasa del bacilo. Es una simple hipótesis, sin confirmación....).

“¿A qué es debida la emulsión de las grasas? Cuando se agita aceite con agua, el aceite se divide en gotitas, pero por el reposo estas gotitas se reúnen de nuevo; la emulsión no es, pues, estable. Si el agua es alcalinizada, la emulsión es mucho más estable y perfecta. La viscosidad del líquido (presencia de mucina) favorece la emulsión igualmente, pero la causa principal de la emulsión se encuentra en la mezcla de *ácidos grasos y de jabones a las grasas neutras*. Ahora, el jugo pancreático realiza todas estas condiciones: Alcalinidad, viscosidad, acción saponificante.

Las experiencias de BERNARD y BERTHELOT han demostrado, en efecto, que el jugo pancreático posee aún la propiedad de *desdoblar las grasas neutras en glicerina y ácidos grasos* (saponificación).

Basta poner una mezcla de una grasa neutra y de jugo pancreático, adicionada de tintura azul de tornasol, dentro de una incubadora a 37 1/2 grados para percibir al cabo de un instante que las grasas se han transformado y que la tintura azul de tornasol se *ha vuelto roja*, bajo la acción del ácido graso que se ha formado.

En la digestión de las grasas, una parte de los ácidos grasos formados, sufre una emulsión; la otra parte, combinándose con los álcalis del jugo pancreático y de la bilis, da jabones, cuya presencia aumenta considerablemente el poder emulsionante del jugo pancreático.

Este desdoblamiento de las grasas es la obra de un fermento soluble:

*La Esteapsina Saponasa o Lipsa.*—(Hedon).

Veamos ahora, qué se llama Pancreatina en Terapéutica: EXTRACTO de páncreas, especialmente de puerco o de carnero, preparado en frío y desecado.

Polvo blanco, amarillento, muy soluble en el agua. Obra en medio alcalino. La substancia desecada es privada de sus lípidos por tratamiento con el éter y después pulverizada. Es fácilmente alterable y pierde su actividad por calentamiento a una temperatura superior a 60° en medio acuoso. Su acción sobre las materias protéicas se ejerce en medio neutro o muy ligeramente alcalino o ácido.

ENSAYO DE SU ACCION LIPOLITICA. Llevad al baño maría a 38° y durante diez minutos una fiola cónica que contiene 10 c. c. de agua bidestilada y 20 c. c. de monobutirina. Añadid entonces, 20 centigramos de pancreatina, agitada vigorosamente y dejad 30 minutos al baño maría a 38° agitando con frecuencia. Llevad luego a la ebullición para destruir el fermento y dejad enfriar. Filtrad. Tomad exactamente, 25 c. c. de filtrado y titulado con la solución decimormal de soda en presencia de fenolftaleína como indicador. No deberéis emplear menos de 6 c. c. de esta solución que corresponden a 20 por ciento de monobutirina hidrolizada.

Debe conservarse la pancreatina en frascos bien tapados, parafinados, al abrigo del calor y de la luz. Incompatibilidades: con los ácidos, álcalis cáusticos, tanino y materias astringentes.

En el desarrollo progresivo de estas "ideas" debemos recorrer aún las páginas de Jeanselme, para traer a esta exposición un nuevo elemento que ha de completar los datos que hemos ido acumulando hasta ahora

Dice Jeanselme: "Las lesiones leprosas son muy discretas en el páncreas. (V. Pág. 461). Ellas consisten en una ligera proliferación *conjuntiva* en la cual los bacilos son raros. Kobayashi, después de 60 autopsias sobre páncreas dice que lo ha encontrado hipertrofiado muy raramente, en los leprosos. *Los lóbulos glandulares no están modificados.* El tejido conjuntivo puede contener células de infiltración en pequeño número. Los islotes de Langenhans están *intactos*".

Vistos y pensados los anteriores elementos de disertación, tenemos:

1) En el bacilo de Hansen entran en su composición las grasas neutras y los ácidos grasos. Tiene además, cuerpos albuminoides, o hidratos de carbono (análogos al glucógeno) en las granuleciones de Lutz.

2) El jugo pancreático emulsiona y saponifica las grasas, peptoniza los cuerpos albuminoides, sacarifica los hidratos de carbono (feculentos).

3) Entre las vísceras del organismo humano, el páncreas es una de las menos atacadas por el bacilo de Hansen.

4) Puede suponerse, por lo tanto, dentro de una sana lógica, que el jugo pancreático desorganiza la estructura del bacilo de Hansen e impide su desarrollo dentro de los lóbulos glandulares que según Kobayashi "No se encuentran modificados", en las autopsias de leprosos.

5) Como consecuencia obligada se impone la experimentación "in vitro" sobre la *acción del jugo pancreático o de la pancreatina* sobre los bacilos extraídos de una emulsión de leproma o contenidos en ella. (Mitsuda) sin llevarlos a la ebullición.

Esta experiencia ha sido hecha por nosotros y hemos encontrado que la emulsión de bacilos ácido-resistentes puesta en contacto con una solución de Pancreatina sin centrifugar, después de un tiempo que varía según la concentración de la Pancreatina, se convierte en una emulsión de bacilos *ácido sensibles*.

El contacto entre la emulsión de bacilos y la solución de Pancreatina debe hacerse, vigilando al iniciar la experimentación, que la reacción del medio sea neutra o a lo más ligeramente ácida, ya que en un medio ácido la Pancreatina no obraría.

La acción de la Pancreatina puede suspenderse inmediatamente y a cualquier momento que se desee añadiendo al tubo de ensayo unas gotas de ácido sulfúrico o clorhídrico o subiendo la temperatura del medio en que se hace el ensayo (37 1/2 grados) a 30 grados para inactivar el fermento por medio del calor.

6) La recolección de los bacilos de Hansen debe hacerse de lepromas previamente aseptizados y por medio de una biopsia absolutamente quirúrgica y aséptica.

7) Las diluciones de Pancreatina deben variarse en los diversos tubos de ensayo para medir los diversos tiempos que emplee el fermento según su grado de concentración.

8) En tubos *de la misma concentración* de fermento pancreático debe suspenderse la acción sobre los bacilos a diversos intervalos de tiempo por medio de la acidificación o del calor y hacer frotais para poder controlar el tiempo exacto que se necesite para convertir los ácido resistentes en ácido sensibles. (Tiempo óptimo).

9) Una vez convertidos los bacilos en ácido sensibles, pueden separarse del medio en que se encuentran por medio de la filtración, utilizando para ello un filtro de tipo Kitasato o Chamberland previamente aseptizado.

10) Estos bacilos ácido sensibles podrán ser sembrados en *diversos medios*, con el fin de estudiar si es posible su cultivo des-

pués de haber sido desprovistos de su capa o envoltura cerograsosa, por medio de la acción de la lipasa.

11) La lipasa o esteapsina debe ser empleada en solución inyectable, dentro de los lepromas, para estudiar sus posibles efectos terapéuticos.

Estas "ideas" las dedico al doctor Patiño Camargo, director del Instituto "Lleras Acosta", investigador de grandes méritos, pidiéndole me perdone si en ellas encuentra un poco de fantasía. En todo caso, soy sincero.