

NUEVO ACADEMICO



DR. MAXIMILIANO RUIZ CASTAÑEDA,
académico de número en la sección de
microbiología y parasitología.

Datos biográficos del

Dr. Maximiliano Ruiz Castañeda.

Nació en Acambay, Estado de México, el 5 de diciembre de 1898. Hizo sus estudios preparatorios en el Instituto Literario del Estado, en la ciudad de Toluca, Méx., y los profesionales en la Escuela Nacional de Medicina, en la Capital de la República, habiendo recibido su título de Médico-Cirujano en mayo de 1923.

Ingresó al Departamento de Salubridad Pública en 1926 como bacteriólogo, y su dedicación en la rama hizo que se le becara en la Fundación Rockefeller en 1927. Es de hacer notar los estudios de investigación que llevó a cabo en la Universidad de Harvard, sobre brucelas, virus filtrables y sobre el tifo exantemático, éstos últimos en colaboración con el Prof. Hans Zinsser y en unión de quien descubrió la vacuna contra esta enfermedad "Zinsser-Ruiz Castañeda".

Ha sido: Subdirector del Instituto de Higiene de México, research-fellow y posteriormente instructor de bacteriología e inmunología en la Escuela de Medicina de la Universidad de Harvard y profesor visitante de la Universidad de Tulane. Actualmente es investigador del Instituto de Enfermedades Tropicales de México y con ese carácter continúa haciendo estudios de investigación en la ponzoña del alacrán y preparación del antisuero, estudios inmunológicos sobre la tuberculosis y sobre variación en las bacterias.

En el Departamento de Investigaciones Médicas, del cual es Director fundador, continúa sus estudios sobre el tifo exantemático y la brucelosis en México.

Entre las distinciones que ha recibido figuran: Primer Premio "Barreda" y "Andrade" en concursos para alumnos de sexto año en la Escuela de Medicina de México; condecoración de la Orden Nacional "Al Mérito", en grado de Oficial, de la República del Ecuador; Medalla "Luis Pasteur" de la Sociedad Mexicana de Geografía y Estadística. Es miembro honorario de la Sociedad Phy Sigma, de Dallas, Tex., y de la Sociedad Americana de Inmunólogos; socio correspondiente de la Academia de Medicina de Nueva York y de la Sociedad de Patología Exótica de París.

La Academia Nacional de Medicina de México lo recibió en su seno con el carácter de socio de número, en la sección de Microbiología y Parasitología, el 14 de abril de 1948.

NOTAS SOBRE PROBLEMAS DE PATOGENESIS DE LA BRUCELOSIS *

Por el Dr. M. EUIZ CASTAÑEDA,
académico de número.

Una observación de trascendencia para el estudio de la brucelosis hecha por Teobaldo Smith (1919) consistió en el hallazgo de gérmenes intracelulares en el corion de la placenta de bovinos que habían abortado como consecuencia de infección por bacilo de Bang. Como en esa época no había sospechas de que el agente del aborto infeccioso tuviera relaciones importantes con el *Micrococcus melitensis*, esa observación de Smith fué de interés solamente en estudios puramente veterinarios.

Es extraño que, al establecerse la relación tan estrecha entre el B. de Bang y el *M. melitensis* por Miss Evans (1918), no se haya especulado sobre la posibilidad de que este último germen pudiese presentar desarrollo intracelular en el hombre infectado.

No fué sino hasta muy recientemente cuando aparecieron estudios confirmativos sobre la posición intracelular de la *Brucella*. Goodpasture y su escuela lograron observaciones muy significativas al infectar con brucelas huevos en embrión. (1) (2).

La primera vez que se hizo referencia sobre el posible desarrollo intracelular de la *Br. suis* en el hombre fué hecha por Meyer (3), quien encontró colonias de brucelas en cortes de riñón de un caso de infección aguda por *Br. suis*. En la Fig. 1 se reproduce una fotomicrografía del trabajo de Smith, en la que se aprecia la extraordinaria semejanza de estas células del corion con células parasitadas por rickettsias, según puede apreciarse al observar la Fig. 2 (pulmón de ratón infectado por *R. mooseri*). En la Fig. 3 puede observarse una celdilla reproducida de una microfotografía.

* Trabajo de ingreso como académico de número en la sesión de Microbiología y Parasitología. Leído en la sesión del 28 de julio de 1948.

grafía del Dr. Buddingh. Se trata al parecer de un macrófago en un corte de corion-alantoides de un huevo infectado. En la Fig. 4 se observa un corte de riñón del caso del Dr. Meyer. Nótese colonias de brucelas directamente relacionadas al citoplasma de celdillas del parenquima.

Nuestro interés en dilucidar problemas de patogénesis de la brucelosis nos condujo a investigar con detalle la secuela de la infección en animales susceptibles (4), mediante métodos que permitieron la obtención de preparaciones de tanta o mayor claridad que en estudios previos. Al sacrificar a los animales infectados por diversas vías, a intervalos convenientes, pudieron lograrse preparaciones de las que son un ejemplo las siguientes:

Fig. 5: Macrófagos llenos de brucelas (cuy).

Fig. 6: Histiocitos parasitados (cuy).

Fig. 7: Células de un capilar sanguíneo (cuy).

Fig. 8: Células parenquimatosas intersticiales del testículo (cuy).

Fig. 9: Células alveolares parasitadas después de inoculación intranasal (ratón).

El aspecto de estas preparaciones es notablemente semejante al que se observa en la infección tifosa experimental. Por el examen microscópico es imposible determinar el origen de una de estas preparaciones, aún por personas experimentadas.

La sugestiva apariencia de desarrollo intracelular de la brucela tiene importancia para el entendimiento de mecanismos patogénicos en la infección por ese germen, no solamente por la peculiar manera de multiplicarse fuera del alcance de agentes defensivos del organismo infectado, sino por la complicada secuela de fenómenos inmunológicos que ocurren en esta enfermedad. El hecho de disponer de material ilimitado para el estudio de la infección humana, nos ha colocado en posición particularmente ventajosa para relacionar la hipótesis de infección intracelular con la evolución de numerosas formas clínicas y los efectos terapéuticos sobre el agente infectante. Ya en otras ocasiones hemos discutido con amplitud este asunto, concretándonos al presente a ratificar que prácticamente todos los fenómenos de infección y defensas en la brucelosis se ajustan a una patogénesis en que, para el mantenimiento de la *Brucella* por periodos prolongados en individuos inmunes, se requiere que el agente infectante pueda desarrollarse fuera del alcance de agentes defensivos, lo que ocurre al penetrar y multiplicarse dentro del protoplasma de celdillas susceptibles a este parasitismo. Las observaciones hechas en animales de

laboratorio revelan que las celdillas parasitadas toleran el agente infectante hasta límites de compatibilidad notables, lo que explica la relativa escasez de lesiones en órganos y tejidos. Por otra parte, la posibilidad de que los monocitos no solamente transporten, sino favorezcan la multiplicación del germen fagocitado, constituye un modo de diseminación eficiente que permite la prolongación indefinida de la infección.

La corroboración de estas suposiciones en casos humanos, tanto en biopsias como en autopsias, ha sido sumamente difícil y no tan demostrativa como en la infección experimental. En esta última, el trabajo se facilita por inoculación de cantidades suficientes de brucelas que multiplican las lesiones; en la infección humana, el número de gérmenes es notablemente reducido, salvo casos excepcionales, encontrándose usualmente en la sangre cantidades raramente mayores de cinco gérmenes o células infectadas por centímetro cúbico, según titulaciones hechas por Carrillo en nuestro laboratorio (5).

Investigaciones prolijas llevadas a cabo por el Dr. Nyka durante los últimos 2 años, han confirmado la existencia de brucelas intracelulares en tejidos humanos; pero estos hallazgos son difíciles y no llegan a presentar los aspectos de infección total de las celdillas parasitadas. Las siguientes ilustraciones hechas por el Dr. Nyka en nuestro laboratorio y que serán motivo de extensa comunicación que se prepara sobre el particular, muestran aspectos de infección intracelular en el hombre (Fig. 10 y 11.)

La falta de informes sobre trabajos de otros autores en estos problemas de la brucelosis, hacen pensar en la dificultad de conseguir material adecuado para corroborar trabajos como el de Meyer, al que nos hemos referido, y la relativa escasez de comentarios sobre los trabajos en que se sugiere una importante fase intracelular en la vida de las brucelas, es motivo de preocupación para nosotros, por lo que hemos buscado toda causa de errónea interpretación que pudiera falsear los fundamentos de una hipótesis de patogénesis que sirve de guía, tanto a la clínica como a la terapéutica de la infección brucelar, en nuestro Departamento.

El aspecto de los monocitos llenos de brucelas, tanto en preparaciones de huevo embrionado como en animales infectados, sugiere a primera vista un trabajo de activa fagocitosis sobre el agente infectante. La posibilidad de que las células de polvo de los alveólos se encuentren llenas de gérmenes por una reacción puramente fagocítica, podría explicar las figuras observadas en el pulmón. El papel fagocítico de otras

celdillas, tales como aquellas del reticulo-endotelio del bazo, de Kupffer en el hígado y otros macrófagos fijos, es indudable, pudiendo suponerse con razón que bastaría que hubiese suficientes brucelas en los espacios intracelulares para provocar una eficiente fagocitosis por los diversos tipos de macrófagos. Esta posibilidad fué confirmada mediante los experimentos siguientes:

1. Inoculando fuertes cantidades de brucelas muertas en la cavidad peritoneal de ratones, tratados 48 horas antes con una emulsión de tapioca para provocar leucocitosis con acúmulo de monocitos en la cavidad tratada, se observó intensa fagocitosis no sólo por polimorfonucleares sino por monocitos, muchos de los cuales tenían el aspecto de los macrófagos llenos de bruceas. Este fenómeno se manifestó con mayor claridad entre 6 y 10 horas después de la inyección de brucelas.

2. Inoculación a ratones por vía intranasal de brucelas muertas por formalina. Se observó una evolución muy interesante de un cuadro de neumonitis que alcanzó un máximo de intensidad a las 48 o 72 horas. Esta neumonía tenía el aspecto macroscópico de la provocada en los mismos animales por gérmenes vivos. Durante las primeras 6 horas los fenómenos celulares fueron poco marcados, notándose, sin embargo, fagocitosis moderada por macrófagos y polinucleares, así como por células de polvo. A las 24 horas el cuadro fagocitario alcanzó su máximo de intensidad notándose figuras como las siguientes: (Fig. 12) en que pueden notarse una fagocitosis tan perfecta que su límite fué la capacidad total de las células. Se observaron macrófagos, células de polvo, células alveolares y polimorfonucleares conteniendo numerosísimas bruceas. Es interesante comparar esta preparación con las Figs. 13 y 14, en que se observan rickettsias en 2 fases del proceso, uno a las 6 horas y otro más tarde. Nótese cómo parece como si los gérmenes se condensaran primero al rededor del macrófago para incrustarse en seguida dentro del protoplasma. Lo interesante de este fenómeno es que no hay diferencia entre las figuras observadas en preparaciones hechas de animales infectados o en los tratados con brucelas o rickettsias muertas.

3. La inoculación por vía intratesticular o intrahepática de brucelas muertas da motivo a cuadros fagocitarios en que los macrófagos tienden a recoger un número considerable de los gérmenes inyectados. Sin embargo, contrariamente a lo observado en la inoculación de gérmenes vi-

vos, no se observan células parenquimatosas conteniendo brucelas. Esta circunstancia es muy importante para la discusión que sigue:

La fagocitosis de brucelas y rickettsias muertas en la forma tan intensa como se ha descrito es de particular importancia si se la compara con el mismo fenómeno cuando se emplean otros gérmenes (pertusis, estafilococos, proteus, etc.). Da la impresión, más que de un movimiento celular destinado a recoger e incorporar brucelas o rickettsias, de un movimiento de gérmenes que tienden a condensarse en gran número sobre las celdillas, siendo la penetración masiva resultado de esa concentración. Es indudable que los macrófagos recogerán gérmenes vivos con la misma facilidad, pero poco probable que ocurran en los tejidos concentraciones suficientes para llenar pasivamente esas celdillas. En los animales inoculados con brucelas vivas la notable escasez de brucelas en zonas donde hay macrófagos completamente llenos al lado de macrófagos vacíos, no puede explicarse por una simple fagocitosis. Además, se ha observado que en zonas donde abundan brucelas extracelulares hay comúnmente numerosos polinucleares con o sin macrófagos parasitados, lo que no ocurre en zonas en que solamente se observan células parasitadas. Al investigar la fagocitosis de brucelas muertas se notó la falta de intervención en esta actividad de células parenquimatosas.

Como se ha indicado en celdillas hepáticas, las de los glomérulos y tubos renales, intersticiales, del testículo, etc., han presentado cuadros francos de acúmulo intracelular de brucelas en los animales tratados con brucelas vivas.

No creemos que los datos aportados sean suficientes para servir de argumento definitivo sobre la multiplicación intracelular de las brucelas, máxime que los resultados de observaciones con gérmenes muertos suministrando aspectos idénticos a lo observado en la infección experimental ponen en duda la posibilidad de que en los macrófagos haya multiplicación de brucelas; pero repetimos, para numerosas células no conocidas como dotadas de acción fagocitaria, estas dudas pueden considerarse menos importantes. Hemos querido discutir por considerar necesario dar a conocer las posibles causas de error en la interpretación de fenómenos que ocurren en la infección brucelar, en cuyo estudio hemos contribuido en alguna extensión.

Sería motivo de gran inconveniente en el momento actual que las teorías patogénicas basadas en la vida intracelular de las brucelas fuesen sometidas a las dudas que nosotros mismos hemos tenido y con argumen-

tos que a muchos parecerían de mayor importancia que a nosotros. Conservando hasta el límite la posibilidad de que en la infección brucelar, las brucelas contenidas en macrófagos sean fundamentalmente el resultado de una fagocitosis extraordinariamente eficiente, la hipótesis patogénica intracelular continúa, desde un punto de vista práctico, en vigor, puesto que a pesar de encontrarse fagocitadas, las brucelas continúan viables, empleando la célula parasitada no sólo como medio de transporte y diseminación, sino de refugio contra la acción defensiva del organismo infectado, así como de las drogas destinadas a su destrucción.

REFERENCIAS

1. Goodpasture, S. W y Anderson, K., The problem of infection as presented by bacterial invasion of chorio-allantoic membrane of chick embryos. *Am. J. of Path* 13, 149-174, 1937.
2. Buddingh, G. J. y Womack, F. C. Observations on the infection of chick embryos with *B. tularensis*, *Brucella* and *Pasterella pestis*. *J. Exp. Med.* 74, 213-222, 1941.
3. Meyer, K. F. Pathogenesis of Undulant Fever. *Essays in biology*. University of California Press 439-459, 1943.
4. Buiz Castañeda, M. Estudios sobre patogénesis de la Brucelosis. 1ª Reunión Interamericana de la Brucelosis. Ediciones del Hospital General. 659-666, 1948.
5. Carrillo Cárdenas Clemente. En prensa.



Fig. 1. Células de la placenta de bovino parasitadas por *Br. abortus*, según el Dr. Teobaldo Smith.



Fig. 2. Pulmón de ratón infectado con *Rickettsia mooseri*.
Giemsa ácido, x 1250.



Fig. 3. Celdilla de huevo embrionado parasitada por *Brucella* según Budding.

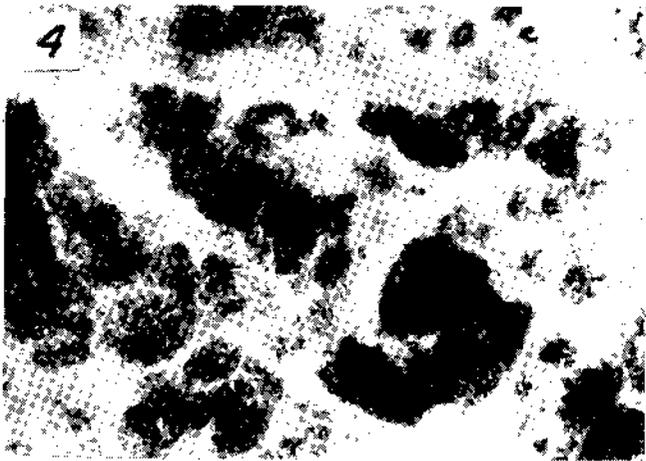


Fig. 4. Riñón de un caso humano de brucelosis por *Br. suis*. Caso del Dr. Meyer, Coloración, Giemsa ácido, x 900.



Fig. 5. Macrófagos parasitados con *Br. melitensis*. Testículo de cuy. Giemsa ácido, x 750.

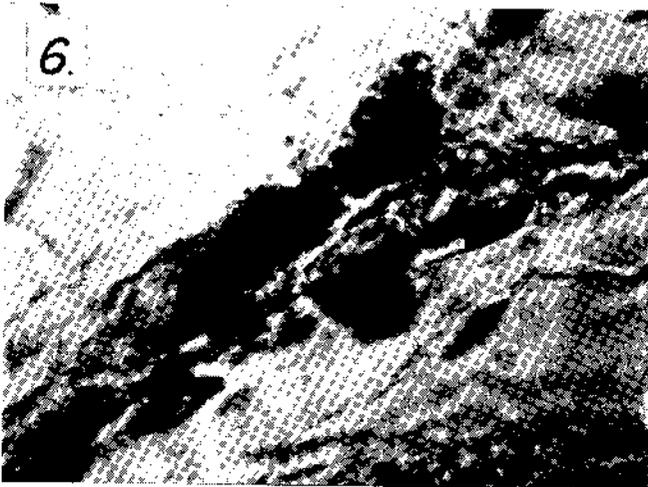


Fig. 6. Histiocitos parasitados con *Br. melitensis*. La misma coloración.



Fig. 7. Capilar con células parasitadas. Testículo de cur.
La misma coloración.

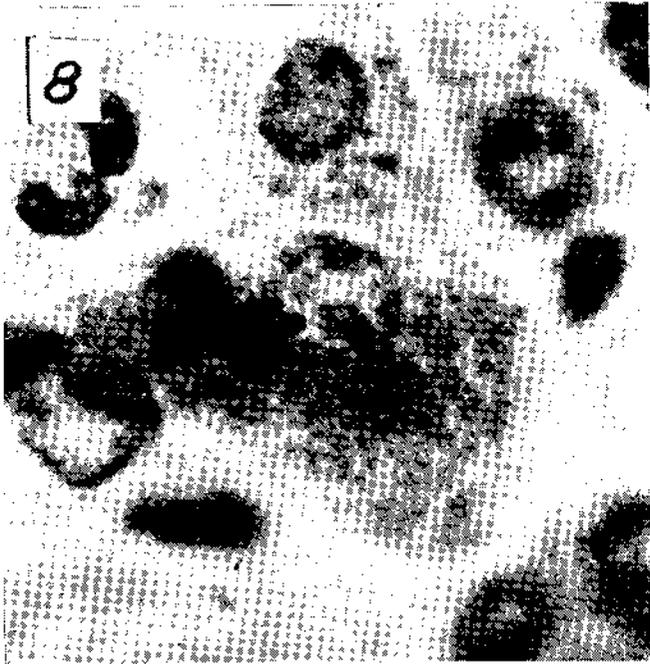


Fig. 8. Células parenquimatosas del testículo parasitadas por
Br. melitensis. Coloración de Nyka, x 1250.

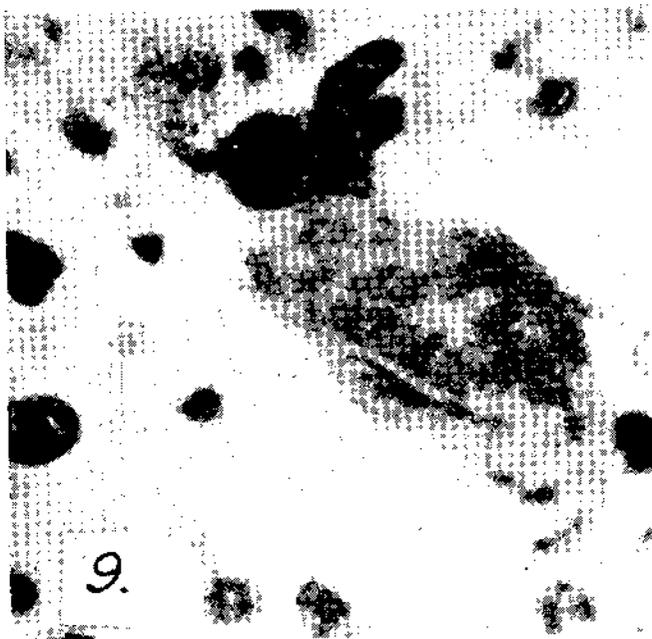


Fig. 9. Celdilla alveolar parasitada por *Br. abortus*. Coloración de Nyka, x 1250.



Fig. 10. Bruceas intracelulares en riñón humano, cortesía del Dr. Nyka.

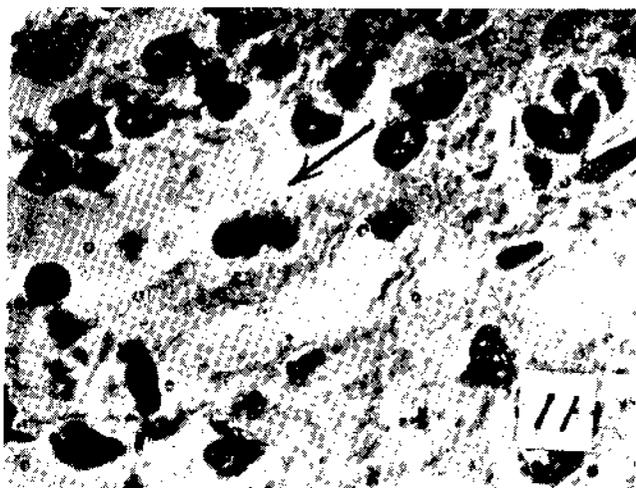


Fig. 11. Brucelas intracelulares en riñón humano, cortesía del Dr. Nyka.



Fig. 12. Fagocitosis perfecta de brucelas muertas por macrófagos de ratón, Wright, x 1000.

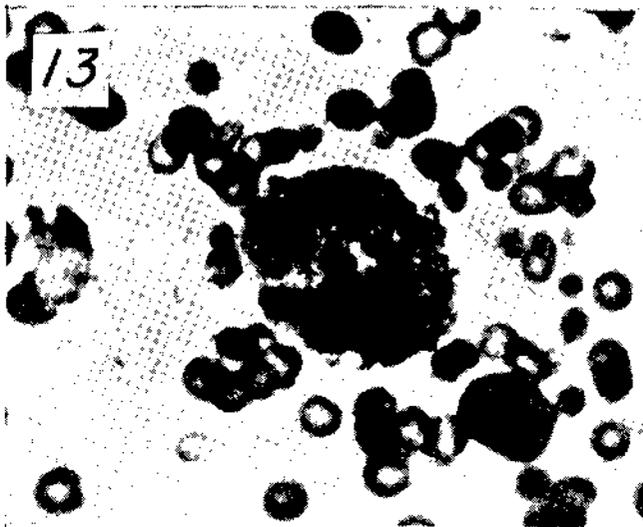


Fig. 13. Rickettsias muertas fagocitadas, preparación hecha a las 6 horas.



Fig. 14. Rickettsias muertas fagocitadas, 12 horas.

COMENTARIO AL TRABAJO DE INGRESO DEL DOCTOR

M. RUIZ CASTAÑEDA *

Por el Dr. GERARDO VARELA,
académico de número.

Los estudios presentados ahora por el Dr. Castañeda acerca del mecanismo por el que las brucelas producen infección y continúan creciendo en los tejidos, han sido motivo de publicación anterior por el autor en los Proc. of the Society of Exp. Biol. and Medicine (1947-64 : 298-302) con el título "Studies on the Pathogenesis of Brucellosis". La demostración de las brucelas dentro de diferentes tipos celulares explica cómo se conservan estos gérmenes en los individuos inmunes.

El hallazgo por Meyer (Meyer K. F., Essays in Biology, University of California Press, 1943, pp. 439-459.) de brucelas dentro del parenquima renal, hizo a Castañeda investigar su posición intracelular. La infección de célula a célula ha sido señalada por Buddingh y Womack y la descarga de microorganismos o sus productos periódicamente quizá sea lo que produce la sintomatología ondulante de la brucelosis.

Los estudios de Castañeda parecen evidenciar la propiedad de las brucelas para utilizar el citoplasma como material de crecimiento, sin ser consideradas propiamente como verdaderos parásitos intracelulares, porque pueden ser cultivadas en medios ordinarios de cultivo.

El hecho señalado por Castañeda de que la parasitación intracelular por brucelas pueda ser interpretado como el mecanismo que pone estos gérmenes fuera del alcance de las drogas terapéuticas destinadas a su destrucción, podemos decir que se pone en duda por los hallazgos de antibióticos como la cloromicetina, que obra en elementos también intracelulares, tales como las rickettsias del tifo exantemático. Hay que pensar, según esto, en la acción intracelular de sustancias curativas.

* Leído en la sesión del 28 de julio de 1948.

El Dr. M. Ruiz Castañeda, al que tengo el honor de dar la bienvenida a esta H. Academia, ha sido uno de los investigadores más importantes del tifo de los últimos años. Discípulo y colaborador del Prof Zinsser y del Prof. Mooser, ha hecho entre los principales estudios, el serológico e inmunológico de los llamados anteriormente cuerpos de Mooser y que ahora consideramos como el agente etiológico del tifo murino; aisló en la desaparecida prisión de Belem, en colaboración con Mooser y Zinsser, la primera cepa de tifo de ratas; logró por diversas técnicas, obtener pululaciones abundantes de rickettsias para ser utilizadas como antígeno en las primeras fijaciones del complemento y preparación de vacunas. La brucelosis ha sido el problema que lo ha ocupado recientemente y donde esperamos de él contribuciones de la importancia de las que le han dado prestigio en el tifo.

El Dr. Castañeda ha tenido también el mérito de formar un grupo selecto de discípulos que trabajan con él en problemas de brucelosis y de tifo.

La aceptación del Dr. M. Ruiz Castañeda en esta Academia demuestra el aprecio que esta corporación ha tenido por la obra científica del distinguido médico mexicano.