

RECIENTES APORTACIONES AL ESTUDIO DE LAS RICKETTSIAS *

DR. CARLOS ESPAÑA
Académico de número

Señor Presidente,

Señor Secretario,

Distinguidos Miembros de la Academia Nacional de Medicina de México,

Señoras y Señores:

Considero un gran honor el que me hayan incluido en este homenaje en el que se honra la memoria y contribuciones del Dr. Hans Zinsser. Muy en particular doy mis gracias más sinceras al eminente investigador mexicano Dr. Maximiliano Ruiz Castañeda, por haberme invitado a participar en este simposio en el que toman parte figuras tan destacadas en nuestro medio científico.

Aunque yo no tuve la oportunidad de conocer personalmente al Dr. Zinsser, todos, estoy seguro, hemos sido inspirados en cierta forma por sus trabajos. Su espíritu de lucha, su fe y sus esfuerzos incansables para aumentar nuestro conocimiento en este campo tan importante de la ciencia médica, nos han servido como un poderoso guía para seguir sus pasos, aunque nuestras propias contribuciones han sido en realidad insignificantes, com-

* Leído el 30 de mayo de 1956.

paradas con los muchos importantísimos descubrimientos que este gran investigador llevó a cabo en sus brillantes estudios con rickettsias.

Sería imposible para mí el poder presentar a ustedes, dentro del tiempo señalado, todas las recientes aportaciones que se han hecho en el estudio del género rickettsia. Decidí por lo tanto hablar, en una forma muy breve, de los adelantos que se han alcanzado en la quimioterapia de las enfermedades causadas por estos microorganismos. El conocimiento de qué sustancias y procedimientos experimentales inhiben el crecimiento de las rickettsias, contribuyen no solamente a la quimioterapia sino que también nos pueden conducir a un mejor entendimiento de los mecanismos de invasión celular y a la relación que existe entre los sistemas enzimáticos de la célula huésped y la multiplicación del parásito. En igual forma, es importante el conocimiento sobre la multiplicación, metabolismo y composición química de las rickettsias.

Las características del crecimiento se han estudiado principalmente en embriones de pollo, utilizando reacciones serológicas como la reacción de fijación del complemento para medir cuantitativamente la multiplicación de las rickettsias. Así, Ormsbee¹ y Ormsbee y colaboradores,² demostraron que en el caso de la *coxiella burnetti* los organismos poseían tres fases de crecimiento: estacionaria, logarítmica y retardada. El título de fijación del complemento guardaba una relación constante con el número de dosis infecciosas y el tiempo promedio de muerte de los embriones infectados. Los antibióticos terramicina, aureomicina y cloramfenicol retardaban el crecimiento de las rickettsias en proporción directa al logaritmo de la dosis de antibiótico usada. Las formas de las curvas correspondientes a los dos primeros antibióticos eran semejantes, pero claramente distintas a la del cloramfenicol. Smadel, Jackson y Ley³ también comprobaron que existía una relación logarítmica entre la dosis de antibiótico y la prolongación de la vida del embrión de pollo.

Bovarnick y Snyder⁴ demostraron que en presencia de succinato, piruvato o glutamato como substratos, suspensiones purificadas de la *R. prowazekii* y la *R. mooseri* utilizaban oxígeno y desprendían bióxido de carbono. La mayor actividad se obtuvo con el glutamato. En presencia de este substrato, el consumo de O₂ fue proporcional a la concentración de organismos, basándose en pruebas de inefectividad en ratones. No hubo consumo de oxígeno en presencia de glucosa, lactato, fumarato, malato o ningún otro aminoácido con la excepción del glutamato. Investigaciones posteriores^{5 6}; sin embargo, demostraron que en el caso de la *R. prowazekii* y la *R. mooseri* existen todas las reacciones que forman parte del ciclo de Krebs o del ácido cítrico. El problema de la permeabilidad rickettsiana a estos

substratos no se ha resuelto todavía, ni tampoco se conoce definitivamente si existen mecanismos de fosforilación.

Por lo que se refiere a su composición química, debemos hacer notar que los procedimientos utilizados para obtener suspensiones purificadas de rickettsias tienen el inconveniente de ser demasiado drásticos y pueden ocasionar la pérdida de algunos constituyentes celulares. Igualmente el lavado repetido de las suspensiones de rickettsias puede dar por resultado la extracción de antígenos solubles. En cualquier forma, varios investigadores ^{7 8 9 10 11} han demostrado la presencia de RNA y DNA lo cual las asemeja a las bacterias y las diferencia de los virus, los cuales en su mayoría poseen solamente un tipo de ácido nucleico. Entre los aminoácidos identificados se encuentran alanina, arginina, ácidos aspártico y glutámico, cistina, glicina, histidina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, proliná, serina, valina, tirosina, triptofano y huellas de treonina. Existen algunas diferencias entre las varias especies de rickettsias, la *R. burnetti*, por ejemplo, no contiene tirosina a diferencia de la *R. prowazekii*, en la cual siempre se ha identificado este aminoácido.

En cuanto a la quimioterapia de enfermedades causadas por *rickettsias*, es verdaderamente sorprendente el progreso que se ha alcanzado durante los últimos diez años. Antes de la Segunda Guerra Mundial de 1939-1945, el único tratamiento conocido era sintomático. Es de interés histórico el señalar que nuestros remedios específicos más antiguos, tales como la quinina, el mercurio, el antimonio y ciertos derivados orgánicos arsenicales eran eficaces principalmente en infecciones causadas por microorganismos de un tamaño considerable, tales como protozoarios y espiroquetas. Con la introducción de las sulfonamidas se encontró un medio eficaz para combatir ciertas infecciones bacterianas, particularmente las causadas por bacterias grampositivas. Los primeros antibióticos descubiertos, con la penicilina a la vanguardia, ampliaron el campo de medicación específica pero sin tener mucho efecto todavía sobre bacterias gramnegativas. Posteriormente, ciertos microbios gramnegativos cedieron a la acción de la estreptomycinina. No obstante estos adelantos, la importancia clínica de estos descubrimientos en enfermedades causadas por agentes infecciosos más pequeños —rickettsias y virus— fue casi nula. En 1942, Snyder y colaboradores ¹² demostraron por primera vez la eficacia del ácido PAB en enfermedades causadas por rickettsias, en ratones infectados con tifo murino. Este hallazgo se debió al hecho de que las sulfonamidas estimulaban el crecimiento de rickettsias y se sabía que el ácido PAB era un antagonista de las sulfonamidas. Subsecuentemente, su actividad frente a otras rickettsias fue demostrada en varios laboratorios y en el hombre. Sin embargo, el ácido PAB

distaba mucho de ser el agente terapéutico ideal, ya que es bastante tóxico y su actividad no es muy considerable. En 1947, 1948 y 1950^{13 14 15} tres antibióticos: el cloramfenicol, la aureomicina y la terramicina, respectivamente, demostraron poseer propiedades antirickettsiales potentes^{16 17 18 19}. Además de estas propiedades, estos antibióticos han dado resultados muy satisfactorios en varias infecciones humanas importantes causadas por microorganismos grampositivos y gramnegativos así como también en enfermedades producidas por virus de gran tamaño, es decir, los virus del grupo *pittacosis* y *linfogranuloma venereum*, lo que les ha valido el calificativo de antibióticos de espectro amplio.

Con el descubrimiento de estos tres antibióticos, puede decirse que el médico tiene a su disposición un método práctico y simplificado en el tratamiento de infecciones rickettsiales con el cual puede reducir la mortalidad virtualmente a cero.

Sería imposible el poder resumir la literatura acumulada para cada uno de estos antibióticos; existen en la actualidad más de mil trabajos publicados solamente sobre la aureomicina. Para aquellos que estén interesados, se recomiendan las revisiones publicadas por Finland y colaboradores,²⁰ Rose & Kneeland,²¹ y Smadel.²²

Basándose en pruebas clínicas muy extensas, Woodward y Parker²³ recomiendan la siguiente dosificación, como óptima, en el tratamiento de infecciones causadas por rickettsias. Para el cloramfenicol, una dosis oral inicial de aproximadamente 50 mg/kg. de peso corporal y dosis diarias subsecuentes de la misma magnitud, pero divididas en partes iguales durante el día y a intervalos de 6 a 8 horas. El tratamiento debe continuarse hasta que el paciente haya mejorado y no se haya presentado fiebre por aproximadamente 24 horas. Para la aureomicina y la terramicina, las dosis sugeridas son de 25 mg/kg. o sea la mitad de la dosis recomendada para el cloramfenicol. Cuando la vía oral no es factible, estos antibióticos pueden suministrarse por la vía endovenosa, como sigue: cloramfenicol, dosis inicial, 20 mg/kg.; aureomicina y terramicina 5-10 mg/kg. de peso corporal, con dosis subsecuentes calculadas en la misma forma, pero divididas en partes iguales cada seis horas. Estos regímenes terapéuticos se han utilizado extensamente en la mayoría de las rickettsiosis con resultados muy satisfactorios. Las investigaciones farmacológicas en animales y en el hombre han comprobado que estas drogas son toleradas razonablemente, pero en algunas ocasiones se pueden presentar varios trastornos. Náusea, vómito, diarrea y proctitis se han encontrado más frecuentemente con la aureomicina y la terramicina que con el cloramfenicol. Después de un tratamiento continuado con cualquiera de los tres antibióticos se han presentado infec-

ciones superpuestas, especialmente moniliasis. Ciertos desórdenes del sistema hemopoyético, tales como anemia aplásica, trombocitopenia y pancitopenia, han sido atribuidos al tratamiento con cloramfenicol. Hay que recalcar que estas discrasias se han descrito únicamente en pacientes que han sido tratados por un período largo y han sido sumamente raras, a consecuencia del uso de estos antibióticos en el tratamiento de pacientes con rickettsiosis. Existe un trabajo publicado²⁴ en el que se concluye que la anemia aplásica no es más frecuente después del cloramfenicol que después de la administración de los otros dos antibióticos.

El beneficio, algunas veces dramático, que se ha obtenido con estas drogas en todas las rickettsiosis es el resultado de la actividad rickettsiostática más bien que rickettsiocida de los antibióticos, lo cual se ha comprobado por el aislamiento de rickettsias viables de pacientes con fiebre tsutsugamushi y fiebre manchada, aún después de 1 a 2 años de haber sido tratados con estos antibióticos. La recuperación final del huésped depende en todos los casos del desarrollo de una inmunidad específica, en cuyo estado el huésped puede ser portador de rickettsias vivas por períodos de tiempo considerables.

Una de las propiedades biológicas de suma importancia de las rickettsias es la producción de sustancias tóxicas específicas, las cuales matan rápidamente a animales de laboratorio cuando éstos son inoculados bajo ciertas condiciones. Muchos de los signos clínicos y cambios patológicos observados en pacientes con infecciones rickettsiales no pueden ser explicados en forma satisfactoria desde el punto de vista de invasión de los tejidos por las rickettsias. Se considera que estas manifestaciones se deben, en parte por lo menos, a la acción de toxinas elaboradas por estos microorganismos. La naturaleza de estas sustancias tóxicas no se ha dilucidado todavía.

Cox y Wong,²⁵ en experimentos recientes, demostraron que la aureomicina tiene un efecto neutralizante directo *in vitro* e *in vivo* sobre las toxinas elaboradas por algunas de las rickettsias. De acuerdo con estos investigadores el cloramfenicol no parece tener esta propiedad, mientras que la terramicina es aproximadamente de 10-15 veces menos activa que la aureomicina en este respecto.

Es un hecho bien conocido que las hormonas córticoadrenales se han utilizado con frecuencia como agentes antitóxicos en algunas infecciones bacterianas.^{26 27 28} Wisseman y colaboradores,²⁹ en sus estudios de la fiebre tsutsugamushi, demostraron que el curso de la enfermedad podía reducirse marcadamente por la administración simultánea de antibiótico y acetato de cortisona. Woodward y Parker²⁴ encontraron que el uso

combinado del cloramfenicol y la cortisona producía en la fiebre manchada resultados muy satisfactorios. Las más notables respuestas observadas fueron la desaparición rápida del dolor de cabeza, la disipación del estado tóxico y la recuperación del apetito. La duración de la fiebre después del tratamiento combinado fue de 1.8 días de promedio, comparado con 3.1, 2.5 y 3.1 días en el caso del tratamiento con los antibióticos solos cloramfenicol, terramicina y aureomicina, respectivamente. El tratamiento combinado parece ser de un valor práctico definido en el caso de infecciones avanzadas, cuando es deseable administrar medidas antitóxicas.

Durante el curso de nuestros estudios de quimioterapia experimental en los laboratorios Squibb en New Brunswick, N. J., supimos que Snyder y Davis habían encontrado que el ácido POB invertía, por competencia, la acción inhibitoria del ácido PAB sobre el crecimiento de una mutante de la *E. coli*, así como su actividad rickettsiostática. Además de comprobar la acción del ácido POB en embriones de pollo y cuyes infectados con la *R. rickettsii*, se llevó a cabo un estudio de compuestos análogos al PAB o al POB con la esperanza de poder encontrar un agente terapéutico útil, fácil de obtener y que no causara las manifestaciones tóxicas secundarias que a veces producen los antibióticos. Al mismo tiempo, quisimos comprobar si el ácido POB tenía algún efecto sobre la actividad rickettsiostática de los antibióticos. Nuestros resultados fueron los siguientes:

1. El ácido POB invierte totalmente la actividad rickettsiostática del ácido PAB. En nuestros experimentos con embriones de pollo, 1 mg de POB neutraliza totalmente la actividad de 1 mg de PAB.
2. De los 143 compuestos análogos al PAB o al POB, sintetizados por la División de Química Orgánica de E. R. Squibb & Sons, que se utilizaron en estos estudios, 5 demostraron propiedades rickettsiostáticas en el embrión de pollo, siendo su actividad alrededor de 10 veces menor que la del cloramfenicol. El ácido POB invirtió la actividad rickettsiostática de estos compuestos en una proporción de 1:2.5-5.
3. Debido a que Snyder y Davis habían postulado que el ácido POB era un metabolito esencial en la síntesis de ciertos aminoácidos aromáticos, se creyó de interés el comprobar si era posible encontrar análogos del POB que fueran capaces también de alterar la actividad rickettsiostática del ácido PAB. De todos los compuestos probados, solamente 8 dieron resultados positivos. Probablemente con una sola excepción, todos estos compuestos son convertidos *in vivo* en un agen-

te común, POB, explicando así su actividad y dando apoyo a la teoría propuesta por Snyder y Davis.

4. La actividad rickettsiostática de los antibióticos de espectro amplio no es influida por el POB, indicando un mecanismo de acción diferente al del ácido PAB.
5. No existe sinergismo, sólo un fenómeno de adición entre el ácido PAB y los antibióticos de espectro amplio, en lo que se refiere a la actividad rickettsiostática.
6. Aunque no logramos encontrar en este estudio ningún compuesto que pudiera tener interés clínico, es muy posible que una investigación cuidadosa de metabolitos y antimetabolitos, así como un mejor entendimiento de las relaciones huésped-parásito, nos lleve al descubrimiento de agentes terapéuticos mejores, en nuestra lucha contra las enfermedades infecciosas del hombre y de los animales.

Mucho se ha aprendido durante los años que han transcurrido desde la muerte de Zinsser, en 1940, y a consecuencia de sus brillantes estudios contamos en la actualidad con medios prácticos con los cuales conquistar el tifo.

Para terminar, en la III Conferencia "Howard Taylor Ricketts", presentada por el Dr. Herald Cox en la Universidad de Chicago el 7 de mayo de 1951, este investigador finalizó su conferencia con el último párrafo del libro del Dr. Zinsser: "Rats, Lice and History". Creo que en esta ocasión resulta apropiado el recordárselo a ustedes:

"El tifo no ha muerto. Vivirá por siglos y continuará apareciendo dondequiera que la brutalidad y estupidez humana le den una oportunidad, lo cual es muy probable que suceda. Pero su campo de acción ha sido restringido y seguirá siendo aprisionado más y más en los jardines zoológicos de enfermedades controladas."

REFERENCIAS

- | | |
|--|---|
| 1 Ormsbee, R. A.: <i>J. Bact.</i> 63:73 (1952). | 5 Bovarnick, M. R., and J. C. Miller: <i>J. Biol. Chem.</i> 184:661 (1950). |
| 2 Ormsbee, R. A., <i>et al.</i> : <i>J. Immunol.</i> 67:437 (1951). | 6 Wisseman, C. L., <i>et al.</i> : <i>J. Immunol.</i> 67:123 (1951). |
| 3 Smadel, J. E., E. B. Jackson, and H. L. Ley, Jr.: <i>Ann. New York Acad. Sci.</i> 54:375 (1950). | 7 Cohen, S. S.: <i>J. Immunol.</i> 65:475 (1950). |
| 4 Bovarnick, M. R., and J. C. Snyder: <i>J. Expert. Med.</i> 89:561 (1949). | 8 Cohen, S. S., and E. Chargaff: <i>J. Biol. Chem.</i> 154:691 (1944). |

- 9 Riss, H. and J. P. Fox: *J. Exper. Med.* 89:681 (1949).
- 10 Tovarnickij, V. I., *et al.*: *Nature* 158:912 (1946).
- 11 Smith, J. D. and M. G. P. Stoker: *Brit. J. Exper. Path.* 32:433 (1951).
- 12 Snyder, J. C., J. Maier, and C. R. Anderson: Report to the Division of Med. Sci. of the Nat. Res. Council, Washington, D.C., Dec. 26, 1942.
- 13 Ehrlich, J., *et al.*: *Science* 106:417 (1947).
- 14 Duggar, B. M.: *Ann. New York Acad. Sci.* 51:177 (1948).
- 15 Finlay, A. C., *et al.*: *Science* 111: 85 (1950).
- 16 Smadel, J. E., E. B. Jackson, and A. B. Cruise: *J. Immunol.* 62:49 (1949).
- 17 Wong, S. C., and H. R. Cox: *Ann. New York Acad. Sci.* 51:290 (1948).
- 18 Anigstein, L., D. M. Whitney, and J. Beninson: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 51:306 (1948).
- 19 Snyder, J. C., *et al.*: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 53:362 (1950).
- 20 Finland, M., *et al.*: *Ann. Int. Med.* 31:39 (1949).
- 21 Rose, H. M. and Y. Kneeland, Jr.: *Amer. J. Med.* 7:532 (1949).
- 22 Smadel, J. E.: *Amer. J. Med.* 7: 671 (1949).
- 23 Woodward, T. E., and R. T. Parker: *Clinical application and mode of action of antibiotics in rickettsial and virus diseases*. The dynamics of virus and rickettsial infections, pp. 437-457, N. Y.: F. W. Hartman, F. L. Horsfall, Jr. and J. G. Kidd, Edt., The Blakiston Co., Inc. 1954.
- 24 Lewis, C. N., *et al.*: *Antibiotics and Chemotherapy* 2:601 (1952).
- 25 Cox, H. R., and S. C. Wong: Presented 5th International Congress of Microbiology, Rio de Janeiro, Brazil, August 1950.
- 26 Kass, E. H., S. H. Ingbak, and M. Finland: *Ann. Int. Med.* 33:1081 (1950).
- 27 Smadel, J. E., H. L. Ley, Jr., and F. H. Dierks: *Ann. Int. Med.* 34:1 (1951).
- 28 Woodward, T. E., *et al.*: *Ann. Int. Med.* 34:10 (1951).
- 29 Wisseman, C. L., *et al.* In press.
- 30 Zinsser, Hans: "*Rats, Lice and History*", p. 301, Boston, Mass.: Little, Brown and Co., 1935.

RESUMEN

La quimioterapia ha alcanzado una gran importancia en el tratamiento de las rickettsiasis. Su estudio no sólo es útil para saber qué sustancias inhiben el crecimiento de los gérmenes, sino también conduce a un mejor entendimiento de los mecanismos de la invasión celular y de la relación que existe entre los sistemas enzimáticos de la célula huésped y de la multiplicación del parásito. En igual forma es importante conocer la multiplicación, el metabolismo y la composición química de las rickettsias. Los tres antibióticos de utilidad son la terramicina, la aureomicina y el cloramfenicol; de ellos, la aureomicina tiene un efecto neutralizante directo "in vivo" e "in vitro" sobre las toxinas elaboradas por alguna de las rickettsias, el cloramfenicol no parece tener esta propiedad y la terramicina es 10 a 15 veces menos activa a este respecto. Los tres antibióticos retardan el crecimiento de las rickettsias en proporción directa al logaritmo de la dosis de antibiótico usada. Se recomienda la siguiente dosificación como óptima: para el cloramfenicol, una dosis inicial oral de 50 mg/kg. y dosis diarias subsecuentes de la misma magnitud, divididas en partes iguales durante el día, 6 a 8 horas. Para la aureomicina y la terramicina 25 mg/kg. El tratamiento debe continuarse hasta que el paciente haya mejorado o no haya presentado fiebre en 24 horas. El tratamiento combinado con hormonas corticoadrenales parece ser de valor práctico en infecciones avanzadas. Por otra parte, se ha encontrado que el ácido P.O.B. invertía la acción inhibidora del ácido P.A.B. sobre el crecimiento de una mutante de la *E. coli*, así como su actividad rickettsiostática. Aunque estos estudios no llevaron aún a ningún resultado clínico práctico, sí muestran un nuevo camino en el descubrimiento de nuevos agentes terapéuticos en la lucha contra las enfermedades infecciosas del hombre y de los animales.

SUMMARY

Chemotherapy has attained a great importance in the treatment of rickettsial diseases. Its study is not only of importance in ascertaining which substances inhibit its growth but also indicates the mechanisms of the cellular invasion and the relation that exists between cellular enzymes and parasitic multiplication. Also, it is of importance to understand the metabolic multiplication and chemical composition of rickettsias. The three antibiotics of choice are terramycin, aureomycin, and chloramphenicol; of these, aureomycin has a direct neutralizing effect, "in vivo" and "in vitro", on the toxin elaborated by some of the rickettsias. Chloramphenicol does not seem to possess this property while terramycin is 10 to 15 times less active in this respect. The three antibiotics mentioned retard the growth of rickettsias in direct proportion to the logarithm of the dosis used. The following optimum dosifications are recommended: In the case of chloramphenicol the inicial oral dose is 50 mg/kg. of weight and subsequent daily dosis of the same magnitude divided in equal partes every 6 to 8 hours. The dosis of aureomycin and terramycin are 25 mg/kg. of weight. Treatment should be continued until complete recovery or an afebril periode not less than 24 hours has passed.

The combined treatment of antibiotics with adrenalcortico hormones seems to be of practical value in advanced states. On the other hand, it has been found that P.O.B. acid inverts the inhibitory accion of P.A.B. acid as far as the growth of a strain of *E. coli* is concerned; as well as its bacteriostatic action on rickettsias. Although these studies, as yet, have no practical application, they nevertheless give an indication as to how we may use the newer antibiotics in the fight against infectious diseases in man and animals.

La muerte es horrible para el hombre con quien todo se extinguirá, pero no para el hombre cuya gloria no puede morir.—CICERÓN.

Toda la vida de un filósofo es la meditación de su muerte.—CICERÓN.

Persuádetes bien de que el que no existe no tiene que sufrir; que todos esos terrores de los infiernos no son más que fábulas, que no hay para los muertos tinieblas ni calabozos, ni tribunales de acusación ni nuevos tiranos.

SÉNECA.

Nuestro error es no ver la muerte sino delante de nosotros, cuando está en gran parte a nuestra espalda. Todo el tiempo pasado ella nos tiene.

SÉNECA.