

### ACCION DE LA CORTICOTROFINA SOBRE LA ESTEROIDE-SULFATASA EN LA CORTICOSU- PRARRENAL HUMANA Y SU PARTICIPACION EN LA BIOSINTESIS DE CORTICOIDES

OSCAR V. DOMÍNGUEZ,<sup>1</sup> ANTONIO VALENCIA-SÁNCHEZ<sup>1</sup>  
Y LETICIA RANGEL-CABIEDES<sup>1</sup>

La posible participación de sulfatos de esteroides de la serie  $\Delta^5-3\beta$ -ol en la biosíntesis de hormonas esteroidales, ha sido considerada extensamente en la literatura científica de los últimos años. El propósito del presente trabajo es demostrar si el ACTH actúa estimulando la esteroide-sulfatasa adrenal.

Se incubaron rebanadas de adrenal humana en presencia de pregnenolona-7-<sup>3</sup>H-sulfato y de pregnenolona-4-<sup>14</sup>C libre en cantidades equimolares (250  $\mu$ moles de cada uno), en condiciones experimentales que impiden la utilización de la progesterona formada hacia corticoides. Determinando la relación dpm <sup>3</sup>H/dpm <sup>14</sup>C en la progesterona, se logró demostrar que la corticotrofina (ACTH) estimula la actividad de la enzima limitante esteroide-sulfatasa, siendo esa relación aproximadamente dos veces mayor en las suprarrenales estimuladas *in vitro* con 0.5 U.I. de ACTH que en las del grupo testigo.

Ya que las reacciones enzimáticas que actúan convirtiendo a la pregnenolona en progesterona y transformando posteriormente a ésta a corticoides, no son limitantes ni son afectadas a nivel individual por el ACTH, se obtiene evidencia de la estimulación de un sitio específico que puede determinar la producción de corticoesteroides, limitando la cantidad de pregnenolona libre disponible para la cortiesteroidogénesis. (Gac. Méd. Méx. 100: 861, 1970).

LA DISMINUCIÓN en el contenido de ácido ascórbico y colesterol en las glándulas suprarrenales, como respuesta

a la administración de corticotrofina (ACTH)<sup>1,2</sup> fue observada y descrita desde hace varios años. Sin embargo, no ha sido posible hasta la fecha, establecer con claridad qué ocurre con el colesterol, y la magnitud de las porcio-

<sup>1</sup> División de Bioquímica de Esteroides, Departamento de Investigación Científica, Centro Médico Nacional, Instituto Mexicano del Seguro Social.

nes que del mismo: *a*) se convierten en hormonas corticosuprarrenales; *b*) se transforman en dehidroepiandrosterona-sulfato, o *c*) se eliminan como colesterol inalterado, ya sea libre o bajo forma de sulfato, como una respuesta a la estimulación con ACTH.

Algunos resultados publicados, parecen indicar que la acción de ACTH tiene lugar en uno de los pasos que participan en la conversión del colesterol a pregnenolona,<sup>3</sup> la cual ocurre vía 20 $\alpha$ -hidroxi-colesterol y 20 $\alpha$ , 20 $\alpha$ -dihidroxi-colesterol.

Independientemente, se ha emitido otra hipótesis alternativa, para explicar el mecanismo de acción de ACTH,<sup>4</sup> en la cual se postula un aumento de la actividad de fosforilasas suprarrenales. El aumento en el metabolismo de glucosa y la consecuente formación de glucosa-6-fosfato, favorece la elaboración de trifosfopiridín nucleótido reducido (TPNH), cofactor indispensable en los procesos de biosíntesis de esteroides, favoreciendo tanto la acción de las hidroxilasas como la acción de las desmolosas. El aumento en la actividad de las fosforilasas, parece estar mediado por la formación de 3',5'-monofosfato de adenosina (AMP) cíclico, inducido por ACTH.<sup>5, 6</sup>

Recientemente, Koritz y Kumar<sup>7</sup> han demostrado que ACTH estimula la biosíntesis de pregnenolona a partir de precursores endógenos, haciendo notar que esta biosíntesis parece ser la más limitada y lenta de todas las reacciones esteroidogénicas. No obstante que ACTH estimula la biosíntesis de pregnenolona, los sistemas enzimáticos que participan en esta biosíntesis siguen

siendo factores limitantes en los mecanismos de esteroidogénesis, incluso bajo el efecto estimulante de la corticotrofina.

En cambio, la más rápida de las reacciones enzimáticas que participan en la esteroidogénesis suprarrenal, es la transformación de pregnenolona a progesterona.<sup>7</sup> Esta conversión ocurre en los microsomas y no parece ser estimulada por ACTH.<sup>7</sup> Este sistema enzimático fue originalmente estudiado por Samuels y colaboradores,<sup>8</sup> habiendo demostrado que la 3 $\beta$ -hidroxi-esteroide-deshidrogenasa juega un papel importante en la biosíntesis de esteroides y requiere específicamente, de difosfopiridín nucleótido (DPN) como cofactor, a diferencia de otras enzimas esteroidogénicas que requieren TPNH como ocurre con las hidroxilasas<sup>9-11</sup> y con las desmolosas.<sup>9, 12</sup>

Las actividades de la 21-hidroxilasa y de la 11 $\beta$ -hidroxilasa, enzimas responsables en las conversiones de progesterona a 11-desoxi-corticosterona y de 11-desoxi-corticosterona a corticosterona, respectivamente, tampoco son estimuladas aparentemente con ACTH,<sup>7</sup> no obstante que estas dos enzimas requieren de TPNH para actuar.<sup>10, 11</sup>

Por lo que toca a algunos otros aspectos fundamentales en los procesos de la esteroidogénesis, se analizan los relativos a los esteroides-sulfatos, tema que ha sido extensamente revisado por Baulieu.<sup>13</sup> Se ha demostrado por varios grupos de investigadores, que la dehidroepiandrosterona-sulfato puede ser excretada por las suprarrenales humanas.<sup>13-16</sup> Por otra parte, ha sido demostrado que el colesterol-sulfato puede

convertirse en dehidroepiandrosterona-sulfato a través de pregnenolona-sulfato y de  $17\alpha$ -hidroxi-pregnenolona-sulfato.<sup>18</sup>  
17-19

El que haya sido demostrado que esta serie de transformaciones ocurre en la molécula de los esteroides, sin que estos productos hayan sido desulfatados en el organismo y resulfatados posteriormente con sulfato endógeno no radioactivo,<sup>18</sup> sugiere que la parte de la dehidroepiandrosterona-sulfato natural, secretada por las corticosuprarrenales y excretada normalmente en la orina, se forme a partir de colesterol-sulfato endógeno natural, existente en circulación, proveniente probablemente del hígado, ya que el colesterol es el único esteroide que exhibe la estructura  $\Delta^5,3\beta$ -ol y no es sulfatado en la corteza suprarrenal.<sup>18</sup>

Las reacciones enzimáticas de sulfoconjugación y de esteroides que poseen la estructura  $\Delta^5,3\beta$ -ol, como lo son el colesterol, la pregnenolona, la dehidroepiandrosterona, podrían ocurrir en el hígado. De hecho, la sulfoconjugación ha sido demostrada en preparaciones microsomales en el hígado.<sup>20</sup>

La presencia de esteroide-sulfatasa en adrenal humana y en adrenal de rata, ha sido ya demostrada.<sup>21</sup> Dorfman describe inclusive un procedimiento para la determinación de la actividad de esteroide-sulfatasa, empleando dehidroepiandrosterona-sulfato como substrato y midiendo la cantidad de material radioactivo hidrolizado, extraíble en solventes orgánicos.

El propósito del presente trabajo es investigar si la esteroide-sulfatasa, responsable de la conversión de pregnenolona-sulfato a pregnenolona libre, es

estimulada por ACTH. Ya que la pregnenolona-sulfato no se convierte directamente a progesterona, a menos que sea hidrolizada por acción de la pregnenolona-sulfato-sulfatasa, se empleó pregnenolona- $7\text{-}^3\text{H}$ -sulfato para medir la acción de la sulfatasa, la cual produce pregnenolona- $7\text{-}^3\text{H}$  libre, siendo ésta rápida y eficientemente convertida en progesterona por la acción de la  $3\beta$ -ol-dehidrogenasa-isomerasa. Para medir la acción de este último complejo enzimático, simultáneamente, se agregaron cantidades equimoleculares de pregnenolona- $4\text{-}^{14}\text{C}$  libre. El efecto de ACTH sobre la sulfatasa pudo ser detectado midiendo la relación  $\text{dpm}^3\text{H}/\text{dpm}^{14}\text{C}$  en la progesterona formada en las diversas condiciones experimentales estudiadas, ya que la sulfatasa resultó afectada por ACTH sin que la  $3\beta$ -ol-dehidrogenasa sufriera cambios apreciables.

Para asegurar que la progesterona, que es el esteroide de referencia, en el cual se realiza la medición comparativa, se acumule al final de las incubaciones realizadas, sin convertirse respectivamente en desoxicorticosterona o en  $17\alpha$ -hidroxi-progesterona por la acción de la 21 y de la  $17\alpha$ -hidroxi-progesterona por la acción de la 21 y de la  $17\alpha$ -hidroxilasas presentes, se llevaron a cabo las reacciones enzimáticas en ausencia de TPNH y en condiciones anaeróbicas (atmósfera de nitrógeno). Por otra parte, para facilitar la acción de la esteroide-sulfatasa y de la  $3\beta$ -ol-dehidrogenasa-isomerasa, se agregaron al medio difosfato de adenosina (ADP) y DPN, como factores. Por otra parte, ya que se conoce que los medios que

contienen fosfatos en solución son fuertes inhibidores de las acciones de la sulfatasa, se empleó como medio Krebs bicarbonato, libre de fosfatos, como medio de incubación. A la vez, puesto que ha sido comunicado que ACTH requiere de células intactas para actuar, se emplearon rebanadas y no homogenatos de suprarrenales humanas para realizar los estudios de la acción *in vitro* de ACTH sobre la actividad de la pregnenolona-sulfato-sulfatasa.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

*Tejido.* El tejido empleado en estos experimentos fue obtenido de pacientes con cáncer mamario a quienes se había practicado suprarrenalectomía. Las glándulas suprarrenales frescas se limpiaron inmediatamente después de extirpadas, para eliminar grasa y tejidos adiposo y conectivo adheridos y se cortaron en rebanadas transversales y posteriormente, en fragmentos pequeños. Los cortes, cuyo peso húmedo era de aproximadamente 100 mg, se incubaron en frascos separados, en las condiciones que se describen a continuación. Tratándose de fragmentos y no de homogenatos, es de esperarse que haya una variación notable de fragmento a fragmento, motivo por el cual se tomaron matraces en tetraplicado en cada una de las condiciones experimentales estudiadas, con el objeto de comparar, en los promedios, el efecto estimulante de ACTH, que se trata de estudiar.

*Substratos.* Cantidades equimolares de sulfato de pregnenolona-7-<sup>3</sup>H y de pregnenolona libre-4-<sup>14</sup>C (250  $\mu\mu$ mo-

les de cada uno), fueron colocadas juntas en matraces de 50 ml con boca esmerilada. La relación dpm <sup>3</sup>H/dpm <sup>14</sup>C en los substratos iniciales, fue de 20.7.

*Medio de incubación y atmósfera.* El medio de incubación empleado fue una solución salina de Krebs bicarbonatos (libre de fosfatos), conteniendo nicotinamida (30 mM) y ajustando el pH a 7.40. Como cofactores, se agregaron difosfato de adenosina (ADP) y difosfopiridín nucleótido (DPN), en concentraciones 1.0 mM y 3.0 mM, respectivamente. A cada matraz de incubación del grupo estimulado con ACTH, se le agregó 0.1 ml de Cortropín<sup>(R)</sup> (Organon) diluido, de tal manera que cada matraz contenía 0.5 U.I. de ACTH. A los matraces de incubación del grupo testigo, se agregó 0.1 ml de solución salina.

*Incubación y extracción.* Una vez que los substratos radioactivos fueron colocados en los matraces de incubación y los solventes orgánicos eliminados con corriente de nitrógeno, los substratos fueron redisoluertos con 0.2 ml de etanol absoluto. Se agregaron 10 ml de medio de incubación a los matraces, incluyendo 0.1 ml de solución de ACTH o 0.1 ml de solución salina, según se tratara de matraces de incubación del grupo estimulado o del grupo testigo, respectivamente. Los fragmentos de suprarrenal, recién cortados y específicamente pesados, de aproximadamente 100 mg, fueron agregados en los frascos de incubación e inmediatamente se eliminó el aire de los matraces, haciendo pasar una corriente de nitrógeno filtrado por un

tubo capilar, con el objeto de eliminar por completo el oxígeno del medio. Los matraces bien tapados con tapón esmerilado, quedaron listos para iniciar la incubación.

Toda esta operación se efectuó manteniendo los frascos de incubación sumergidos en agua helada para mantener baja la temperatura del medio y evitar así, la iniciación de las reacciones enzimáticas.

Los matraces bien tapados fueron incubados a 37.5°C en un incubador Dubnoff con agitación horizontal. Los frascos se dejaron en incubación durante 60 minutos (o durante el tiempo deseado, según los diversos experimentos realizados). Al término del período de la incubación, se agregaron 0.1 ml de una solución 1.0 N de HCl, con lo cual se detienen las reacciones enzimáticas. Se homogeneizaron el tejido y el medio y se procedió a extraer la mezcla total cinco veces con 10 ml de éter: cloroformo (4:1, v:v). En algunos experimentos fue de interés estudiar el contenido relativo de progesterona radioactiva retenido en el tejido y la progesterona presente en el medio. Asimismo, se consideró de interés, ver la diferencia en la distribución de substratos no utilizados al final de la incubación, en el medio y dentro del tejido. En estos casos, se procedió en forma diferente para efectuar las extracciones. Inmediatamente después de haber detenido la incubación con ácido clorhídrico, se decantó el medio y se separó del tejido, que permanecía en el fondo del matraz. El medio se extrajo directamente cinco veces con 10 ml. de éter: cloroformo (4:1, v:v). El tejido fue

homogeneizado en Krebs-bicarbonato fresco y, separadamente, sometido a extracción cinco veces con 10 ml de éter-cloroformo. El análisis del contenido de progesterona y su composición dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$ , se realizó en dos extractos separados: el primero a partir de los extractos obtenidos del medio de incubación y el segundo a partir de extractos obtenidos de las suprarrenales homogeneizadas, después de que habían sido incubadas.

Finalmente, los extractos colectados se evaporaron a presión reducida y en atmósfera de nitrógeno. Alícuotas de estos extractos fueron tomadas para efectuar cálculos de recuperación y conocer el contenido de materiales radioactivos en las muestras por analizar por métodos cromatográficos.

*Cromatografía en papel.* Los extractos totales de las incubaciones fueron preparados para cromatografía en papel, para lo cual se emplearon sistemas de tipo Zaffaroni<sup>22</sup> y preferentemente el sistema hexano/propilenglicol, que permite una separación completa de la progesterona formada y de los substratos no utilizados, tanto pregnenolona libre como pregnenolona-sulfato. Estos cromatogramas se desarrollaron de tal forma, que en tiras paralelas verdaderas,<sup>23</sup> se cromatografió un colorante estándar F-11, derivado de la antroquinona, el cual está constituido de cuatro distintos componentes coloreados que se separan totalmente: uno de color morado, uno de color rosa, uno de color azul y otro de color verde-azul. El colorante de referencia fue el componente de color verde-azul, el cual tiene una movilidad muy similar a la

de la progesterona en el sistema mencionado.

Los cromatogramas fueron secados en corriente de aire a 35°C y las zonas de radioactividad, detectados en un Actígrafo II Nuclear Chicago-4π. Las zonas de radioactividad localizadas fueron eluidas con metanol, de acuerdo con el método descrito por Domínguez.<sup>23</sup> A continuación, se tomaron alícuotas de cada una de las zonas radioactivas para determinar su contenido en <sup>3</sup>H y <sup>14</sup>C, empleando el espectrofotómetro de centelleo líquido - Mark I de Nuclear Chicago y aplicando el método de relación de canales.<sup>24</sup> Las tres zonas radioactivas que se trabajaron fueron la zona de origen, la cual contiene pregnenolona-sulfato, la zona de pregnenolona libre ( $R_s = 0.42$  con relación a progesterona) y la zona de progesterona formada. Sistemática y consistentemente, se encontró que el único producto biosintetizado en las incubaciones fue progesterona y este producto contenía tanto <sup>3</sup>H como <sup>14</sup>C. En ninguno de los frascos incubados se formaron esteroides hidroxilados a partir de progesterona, tales como 17α-hidroxi-progesterona, 11-desoxi-corticosterona, corticosterona, o cortisol; tampoco hubo conversión de pregnenolona a 17α-hidroxi-pregnenolona ni a 21-hidroxi-pregnenolona. O sea que las hidroxilasas normalmente presentes en la suprarrenal no actuaron, bajo las condiciones experimentales descritas, sobre ninguno de los substratos, ni en su forma libre ni en su forma sulfatada.

Por análisis del material eluido del origen, pudo comprobarse que solamente estaba presente pregnenolona-sulfato

no utilizada por el tejido, ya que después de hidrólisis ácida, el único material extractable en solventes orgánicos, se comportó uniformemente como pregnenolona-7-<sup>3</sup>H. No hubo contenido de <sup>14</sup>C en esta pregnenolona, lo cual indica que la pregnenolona <sup>14</sup>C inicial, no se sulfató por la adrenal en cantidades apreciables en las condiciones experimentales estudiadas.

*Cristalización e identificación de la progesterona formada.* El material radioactivo de cada uno de los cromatogramas, correspondientes a la zona de progesterona, la cual contiene tanto <sup>3</sup>H como <sup>14</sup>C, fue preparado para microcristalización, en presencia de 25 mg de progesterona pura, obtenida de los Laboratorios Sternaloids. Las mezclas se sometieron a recristalizaciones sucesivas hasta obtener actividades específicas constantes (dpm <sup>3</sup>H/mg y dpm <sup>14</sup>C/mg), así como relación constante dpm <sup>3</sup>H/dpm <sup>14</sup>C.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A partir de la relación dpm <sup>3</sup>H/dpm <sup>14</sup>C determinada en progesterona, es posible observar en forma comparativa, la incorporación relativa y la contribución mayor o menor de la conversión de los substratos iniciales pregnenolona-7-<sup>3</sup>H-sulfato → pregnenolona libre-7-<sup>3</sup>H → progesterona-7-<sup>3</sup>H, en presencia y ausencia de ACTH, tomando como referencia la conversión de pregnenolona libre-<sup>14</sup>C → progesterona-<sup>14</sup>C, reacción rápida, de gran capacidad y no afectada por el ACTH.<sup>7</sup>

Mientras más alta resulte ser la rela-

ción dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$ , mayor actividad de pregnenolona-sulfato-sulfatasa habrá en el tejido para igualdad de tiempos de incubación. Mientras menor sea esa relación, más pequeña será la contribución de la sulfatasa con relación a la contribución de la  $3\beta$ -ol-dehidrogenasa-isomerasa, en función de moles de cada uno de los substratos convertidos a progesterona. Al trabajar con cantidades equimolares y diferentemente marcados, los dos substratos empleados permiten medir: *a*) la participación o actividad de una enzima limitante (esteroide-sulfatasa) con rela-

roide-sulfatasa de suprarrenal humana.

En la tabla 1 se anotan los pesos reales de los fragmentos de suprarrenal incubada en los cuatro frascos individuales, en presencia de 0.5 U.I. de ACTH y los pesos de los fragmentos de adrenal incubados en los cuatro frascos del grupo testigo.

No obstante que hay gran variación en los resultados dentro de cada grupo, debido probablemente a la heterogeneidad de la distribución de enzimas en los distintos fragmentos, se puede observar una diferencia significativa entre las relaciones dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$  obte-

TABLA I

EFFECTO DE LA ESTIMULACION CON ACTH *IN VITRO* EN LA CONVERSION DE PREGNENOLONA-7- $^3\text{H}$ -SULFATO Y DE PREGNENOLONA-4- $^{14}\text{C}$ -LIBRE A PROGESTERONA EN SUPRARRENAL HUMANA

	Frasco No.	Suprarrenal rebanada mg	Relación dpm $^3\text{H}$ /dpm $^{14}\text{C}$ en progesterona formada*	
Grupo con ACTH	1	97	2.26	Promedio = 3.58
	2	108	3.57	
	3	105	4.88	
	4	99	3.59	
				ACTH
				Testigo
				Promedio = 1.88
Grupo testigo	5	102	2.28	Promedio = 1.90
	6	103	1.59	
	7	102	1.75	
	8	96	1.98	

\* Después de recristalización a actividad específica constante (dpm  $^3\text{H}$ /mg y dpm  $^{14}\text{C}$ /mg) y relación dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$  constante.

ción a la participación de una enzima ilimitada ( $3\beta$ -ol-de-H-asa) en una misma adrenal; y *b*) el efecto estimulante o inhibidor exhibido por cualquier agente investigado sobre la enzima limitante (esteroide-sulfatasa). Se describen a continuación los resultados del efecto de ACTH *in vitro* sobre la este-

nidas. El promedio de la relación dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$  en progesterona es aproximadamente dos veces mayor para el grupo estimulado con ACTH *in vitro*, que para el grupo testigo, lo cual indica que ACTH favorece la incorporación de pregnenolona-sulfato hacia

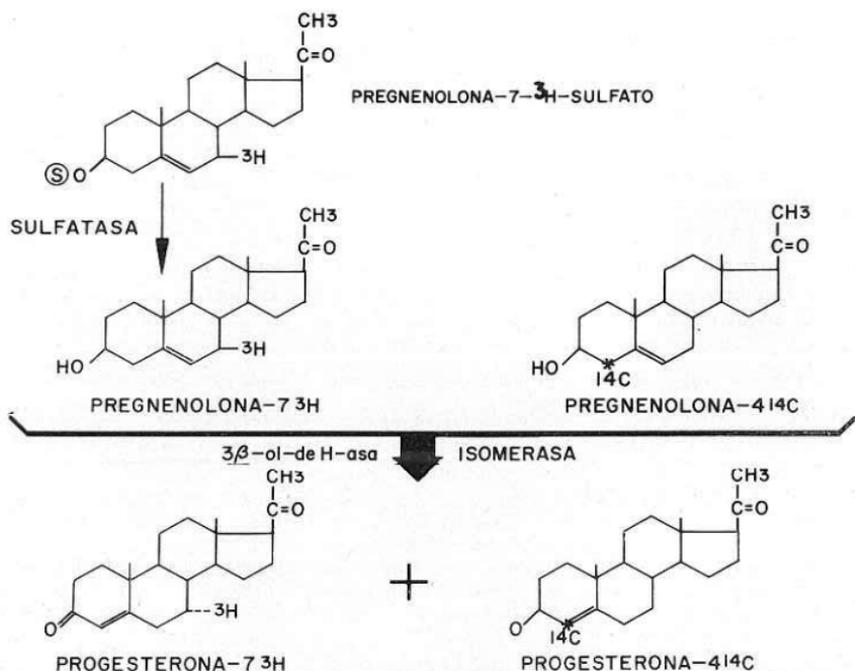


FIGURA 1

progesterona. Como la pregnenolona-sulfato debe pasar obligatoriamente por pregnenolona libre y la conversión de ésta a progesterona se efectúa rápidamente sin ser ésta además, una reacción limitante, el resultado indica el efecto estimulante de ACTH sobre la pregnenolona-sulfatasa. (Fig. 1).

Los resultados de una incubación idéntica efectuada con otra glándula suprarrenal humana, mostró para ACTH una relación dpm <sup>3</sup>H/dpm <sup>14</sup>C en progesterona 1.96 veces mayor que para el grupo testigo. Con adrenal de rata se obtuvo un incremento 1.7 veces

mayor como respuesta a estimulación con ACTH.<sup>25</sup>

La acción de ACTH *in vivo* y la medición de la activación que ejerce sobre la esteroide-sulfatasa, ha sido demostrada en rata.<sup>25</sup>

En la tabla 2, se resumen los resultados obtenidos en una serie de incubaciones en presencia de aproximadamente las mismas cantidades de tejido suprarrenal humano en rebanadas. Los fragmentos fueron incubados durante distintos intervalos de tiempo (5, 10, 15, 30, 60 y 120 minutos), con objeto de observar los cambios de la relación

dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$  en progesterona formada, a partir de pregnenolona- $^3\text{H}$ -sulfato y pregnenolona libre- $^{14}\text{C}$ , en función del tiempo.

Tratándose de dos reacciones enzimáticas, una en la que participa la esteroide-sulfatasa, que convierte la pregnenolona- $^3\text{H}$ -sulfato a pregnenolona libre- $^3\text{H}$ , y la otra que es el complejo  $3\beta$ -ol-dehidrogenasa-isomerasa, que convierte la pregnenolona libre- $^{14}\text{C}$  a pro-

nada en condiciones normales) que es la catalizada por la  $3\beta$ -ol-dehidrogenasa-isomerasa.

En la tabla 2 puede observarse, que independientemente del continuo aumento en la relación dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$  en función del tiempo de incubación, para la progesterona formada, consistentemente se encontraron valores más elevados en esta relación dpm  $^3\text{H}$ /dpm  $^{14}\text{C}$  para la progesterona aislada del te-

TABLA 2

CONVERSION DE PREGNENOLONA-7- $^3\text{H}$ -SULFATO Y DE PREGNENOLONA LIBRE-4- $^{14}\text{C}$  A PROGESTERONA EN REBANADAS DE SUPRARRENAL HUMANA INCUBADAS DURANTE DIFERENTES PERIODOS

Tiempo de incubación (minutos)	Suprarrenal rebanada mg	Relación dpm $^3\text{H}$ /dpm $^{14}\text{C}$ en progesterona formada y aislada*	
		Del medio	Del tejido
5	116	0.5	0.9
10	110	0.8	1.6
15	106	1.2	2.3
30	102	2.5	4.0
60	107	3.7	6.4
120	116	5.5	7.3

\* Después de recristalización a actividad específica constante (dpm  $^3\text{H}$ /mg y dpm  $^{14}\text{C}$ /mg).

gesterona- $^{14}\text{C}$  y la pregnenolona- $^3\text{H}$  liberada a progesterona- $^3\text{H}$ , se observa que independientemente del tiempo, y siendo extraordinariamente elevada la conversión de pregnenolona libre a progesterona, una vez logrado un valor máximo de  $\text{C}^{14}$  en progesterona (85% a 90%), la progesterona- $^3\text{H}$  procedente del sulfato de pregnenolona, lenta y gradualmente va aumentando, conforme el tiempo pasa. Este resultado habla definitivamente de una reacción limitante, que es la catalizada por la sulfatasa, en comparación con una reacción no limitante (de hecho, desenfren-

jido que para la progesterona presente en el medio de incubación.

Varios fenómenos pueden explicar estos hallazgos (Fig. 2):

a) El sulfato de pregnenolona (5-P- $^3\text{H}$ -S) difunde más efectivamente del medio hacia dentro del tejido que la pregnenolona libre (5-P- $^{14}\text{C}$ ).

b) La conversión de pregnenolona-sulfato (5-P- $^3\text{H}$ -S) a pregnenolona (5-P- $^3\text{H}$ ) ocurre sólo o preferentemente en el tejido y no ocurre o es muy limitada, en el medio; esto trae como consecuencia, que tanto dentro como fuera, la 5-pregnenolona liberada (5-P- $^3\text{H}$ ) a

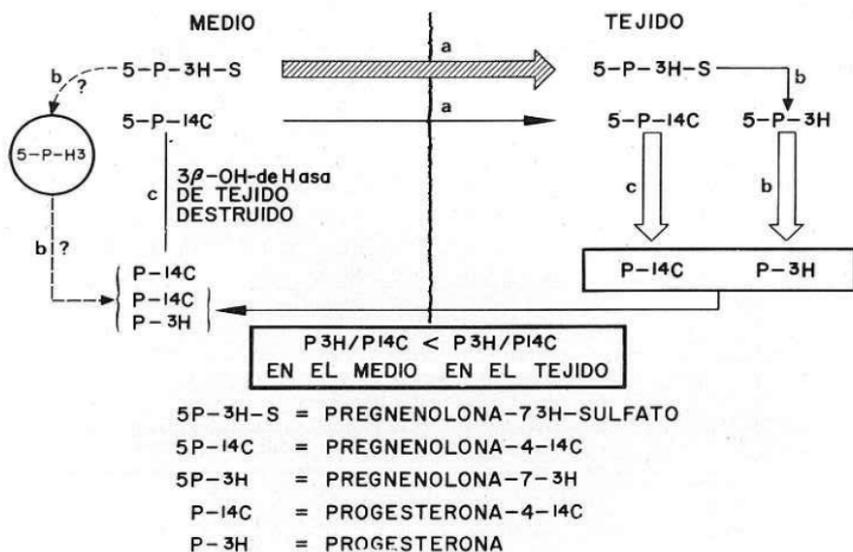


FIGURA 2

máxima capacidad, pase a progesterona-<sup>3</sup>H (P-<sup>3</sup>H) y es mayor en el tejido que en el medio.

c) Suponiendo que haya enzimas en el medio, a consecuencia de células destruidas al rebanar la adrenal, es probablemente más significativa la acción de la 3β-ol-dehidrogenasa en la conversión de pregnenolona-<sup>14</sup>C (5-P-<sup>14</sup>C) a progesterona (P-<sup>14</sup>C) en el medio que dentro del tejido, debido a que por una parte, difunde lentamente al interior del tejido y por otra parte, hay mayor contenido de 3β-ol-dehidrogenasa que de sulfatasa en el medio que dentro del tejido.

Analizando todas estas posibilidades, que al no contradecirse, pudieran en realidad participar en forma conjunta y simultáneamente, observamos que todas respaldan en el mismo sentido el

que la relación dpm <sup>3</sup>H/dpm <sup>14</sup>C sea menor en la progesterona aislada del medio que en la progesterona aislada del tejido.

Así como este razonamiento tiene un sentido lógico, los resultados obtenidos permiten postular que la pregnenolona-sulfato probablemente difunde más eficientemente a través de la membrana que la pregnenolona libre.

Tal vez lo mismo ocurra con otros esteroides y sean colesterol-sulfato, pregnenolona-sulfato y dehidroepiandrosterona-sulfato, más fácilmente dializables que los correspondientes esteroides libres en la serie Δ<sup>5</sup>-3β-ol.

#### CONCLUSIÓN

Se ha trabajado con un diseño experimental que ha permitido estudiar la

actividad de la pregnenolona-sulfato-sulfatasa en suprarrenal humana.

Se demuestra que la conversión de pregnenolona-sulfato a pregnenolona libre, catalizada por la acción de la sulfatasa, es una reacción limitante en la biosíntesis de la progesterona, materia prima fundamental en la esteroidogénesis; en tanto que se demuestra una vez más, que la conversión de pregnenolona libre a progesterona es una reacción muy rápida, de gran capacidad y definitivamente no limitante en la producción cuantitativa de hormonas esteroideas en suprarrenal y gonadas normales.

Se demuestra por primera vez que ACTH estimula *in vitro*, la actividad de la esteroide-sulfatasa, habiéndose abierto una nueva posibilidad de explicar el mecanismo de acción de ACTH en la esteroidogénesis y producción de hormonas adrenocorticales.

#### AGRADECIMIENTO

Se agradece al Dr. Joaquín Rivadenevra y al Servicio de Endocrinología del Hospital de Oncología del Instituto Mexicano del Seguro Social, el haber proporcionado el tejido suprarrenal humano empleado en estos estudios enzimáticos.

#### REFERENCIAS

- Sayers, G.; Sayers, M. A.; Lewis, H. L., y Long, C. N. H.: *Effect of adrenotropic hormone on ascorbic acid and cholesterol content on the adrenal*. Proc. Soc. Exptl. Biol. and Med. 55: 238, 1944.
- Sayers, G. y Sayers, M. A.: *The pituitary - adrenal system*. Recent Prog. Horm. Res. 2: 81, 1958.
- Stone, D. y Hecht, O.: *Studies on ACTH action in perfused bovine adrenergogenesis*. Arch. Biochem. and Biophys. 51: 457, 1954.
- Haynes, R. C. y Berthet, L.: *Action of corticotropin*. J. Biol. Chem. 225: 115, 1957.
- Haynes, R. C., Jr.; Peron, F. G., y Kortiz, S. B.: *Activation of adrenal phosphorylase by corticotropin*. J. Biol. Chem. 234: 1421, 1959.
- Karaboyas, G. C. y Kortiz, S. B.: *Identity of the site of action of 3' 5'-adenosine mono-phosphate and corticotropin in corticosteroidogenesis in rat adrenal and beef adrenal cortex slices*. Biochemistry 4: 462, 1965.
- Kortiz, S. B. y Kumar, A. M.: *On the mechanism of action of ACTH*. J. Biol. Chem. 245: 152, 1970.
- Samuels, L. T.; Helmreich, M. L.; Zasates, M. B. y Reich, M.: *An enzyme in endocrine tissues which oxidizes  $\Delta^5$ -3-hydroxysteroids to  $\Delta^4$ -3-unsaturated ketones*. Science 113: 490, 1951.
- Lynn, W. S., Jr. y Brown, R. H.: *Conversion of progesterone to androgens by testes*. J. Biol. Chem. 232: 1015, 1958.
- Ryan, K. y Engel, L. L.: *Estrogen metabolites in human serum*. J. Biol. Chem. 225: 103, 1957.
- Hayano, M. y Dorfman, R. I.: En: *Methods in Enzymology*. Colowick, S. y Kaplan, N. O. (Eds.). New York, Academic Press. Vol. 3, p. 503 y en: *Metabolism of Steroid Hormones*, Dorfman, R. I. y Ungar, F. (Eds.). New York, Academic Press. p. 385.
- Halkerkston, J. D. K.; Eichhorn, J., y Hechter, O.: *TPNH requirement for cholesterol side chain cleavage in adrenal cortex*. Arch. Biochem. Biophys. 85: 287, 1959.
- Baulieu, E. E.; Corpechot, C.; Dray, F.; Emiliozzi R.; Lebeau, M. C.; Jarvis, P. M., y Robel, P.: *An adrenal-secreted "androgen": dehydroisoandrosterone sulfate. Its metabolism and a tentative generalization on the metabolism of other steroid conjugates in man*. Recent Prog. Horm. Res. 19: 411, 1963.
- Baulieu, E. E.: *Studies of conjugated 17-ketosteroids in a case of adrenal tumor*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 22: 501, 1962.
- Van de Wiele, R. L.; MacDonald, P. C.; Botte, E. y Lieberman, S.: *Precursors of the urinary 11-desoxy-ketosteroids: estimation of the secretory rate of dehydroisoandrosterone*. J. Clin. Endocrinol. Metab. 22: 1207, 1962.
- Van de Wiele, R. L.; MacDonald, P. C.; Gurrpide, E. y Lieberman, S.: *Studies on the secretion and interconversion of the androgens*. Recent Prog. Horm. Res. 19: 275, 1963.

17. Calvin, H. I. y Lieberman, S.: *Evidence that steroid sulfates serve as biosynthetic intermediates. II. In vitro conversion of pregnenolone-<sup>3</sup>H-sulfate <sup>35</sup>S to 17 $\alpha$ -hydroxypregnenolone-<sup>3</sup>H-sulfate <sup>35</sup>S*. *Biochem.* 3: 59, 1964.
18. Roberts, K. D.; Bandi, L.; Calvin, H. I.; Drucker, W. D. y Lieberman, S.: *Evidence that cholesterol sulfate is a precursor of steroid hormones*. *J. Am. Chem. Soc.* 86: 958, 1964.
19. Calvin, H. I.; Van de Wiele, R. L. y Lieberman, S.: *Evidence that steroid sulfates serve as biosynthetic intermediates: in vivo conversion of pregnenolone-sulfate-<sup>35</sup>S to dehydroisoandrosterone-sulfate-<sup>35</sup>S*. *Biochem.* 2: 648, 1963.
20. De Meio, R. H. y Lewycka, C.: *In vitro synthesis of dehydroepiandrosterone sulfate*. *Endocrinology* 56: 489, 1955.
21. Burstein, S. y Dorfman, R. I.: En: *Metabolism of Steroid Hormones*. Dorfman, R. I. y Ungar, F. (Eds.) New York, Academic Press p. 414.
22. Burton, R. B.; Zaffaroni, A. y Keutmann, E. H.: *Paper chromatography in steroids. II. Corticosteroids and related compounds*. *J. Biol. Chem.* 188: 763, 1951.
23. Domínguez, O. V.: *Chromatography of steroids on paper*. En: *Methods of steroid analysis*. Carstensen, H. (Ed.) New York, Marcel Dekker, Inc., 1967.
24. Bush, E. T.: *General applicability of the channel ratio method of measuring liquid scintillation counting efficiencies*. *Anal. Chem.* 55: 1024, 1963.
25. Domínguez, O. V.: *The effect of in vivo stimulation with ACTH on the steroid sulfatase activity in rat adrenal*. III International Congress in Hormonal Steroids. Hamburg, 1970.

## LA PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LAS MICOSIS SUBCUTÁNEAS<sup>1</sup>

ANTONIO GONZÁLEZ-OCHOA<sup>2</sup>

EL TÉRMINO convencional de micosis subcutáneas, por oposición al de cutáneas y al de viscerales, comprende la rinosporidiosis, la cromomicosis, la esporotricosis y el micetoma. Este término es inadecuado puesto que las dos últimas micosis pueden tener localizaciones profundas y viscerales, lo cual hace variar el pronóstico y hasta cierto punto el tratamiento. La esporotricosis, en el tipo hematógeno cutáneo, frecuentemente presenta además de los nódulos subcutáneos elementos nodulares en pulmón, hígado, epidídimo, huesos y otros órganos. El micetoma tempranamente invade los huesos, y el tipo actinomicético, particularmente el debido a *Nocardia brasiliensis*, cuando asienta en tórax, localización que alcanza el 11% de los casos, frecuentemente penetra al pulmón, y cuando asienta en pared abdominal, penetra a la cavidad peritoneal e invade vísceras.

Tomando en cuenta lo anterior, y con base a la especial actividad de los hongos para invadir el tegumento, particularmente el cutáneo, propusimos desde 1956<sup>1</sup> una clasificación de las mi-

cosis, sustentada en la manera como los diversos hongos producen la agresión cutánea. De esta manera denominamos *micosis exclusivamente tegumentarias* a las llamadas micosis cutáneas, *micosis inicialmente tegumentarias* a las denominadas subcutáneas, y *micosis secundariamente tegumentarias* como término equivalente al de las micosis viscerales. En las primeras la infección no va más allá, sino excepcionalmente, de las capas más superficiales de la epidermis, invadiendo además pelos y uñas; en el segundo grupo el inicio de la infección es cutáneo, pero la agresión va más allá de la piel, invadiendo tejidos subcutáneos, y en caso de algunos hongos como el agente de la esporotricosis y en los del micetoma, la infección puede llegar a músculos, huesos, articulaciones, e inclusive vísceras, como ya fue mencionado; en el tercer grupo, o sea el de micosis secundariamente tegumentarias, que sería el equivalente de las micosis viscerales, el inicio del padecimiento se hace por estructuras profundas, particularmente el pulmón, y *a posteriori*, en función del hongo y de la sobrevida del enfermo, aparecen las localizaciones cutáneas. Desde luego que esta clasificación, desde el momento que trata de agrupar

<sup>1</sup> Trabajo presentado en la sesión ordinaria del 15 de abril de 1970.

<sup>2</sup> Académico numerario. Instituto de Salubridad y Enfermedades Tropicales. Secretaría de Salubridad y Asistencia.

fenómenos biológicos debe tener excepciones, como es el caso de la nocardiasis que no disemina al tegumento.

Por lo que respecta a la prevención de los padecimientos que nos ocupan, actualmente ni tan siquiera es posible imaginar cómo pudiera lograrse. La razón estriba en que sus agentes etiológicos se encuentran atrincherados en los suelos y en las plantas, de donde no es posible erradicarlos; y, por otra parte, el hecho de que los padecimientos que originan sean esporádicos y no existan antecedentes, fuera de los ocupacionales, que predispongan a su adquisición, contribuyen a imposibilitar su prevención.

El tratamiento de la rinosporidiosis consiste exclusivamente en la destrucción de las lesiones, aconsejándose el bisturí eléctrico. Aunque se han ensayado algunos medicamentos no existe actualmente fármaco alguno con el que sea posible curar esta micosis.

Para la esporotricosis se han sugerido multitud de medicamentos y recursos; sin embargo el yoduro de potasio continúa siendo el auténtico tratamiento específico de la esporotricosis cutánea en sus tipos linfagítico y fijo, cuyo pronóstico es muy bueno y en los que se han comunicado curaciones espontáneas. En el tipo hematógeno el yoduro de potasio es menos eficaz, e insuficiente cuando existen localizaciones óseas o viscerales, debiéndose en estos casos asociar la griseofulvina, y en situaciones graves, la anfotericina B, al yoduro de potasio. Si se toma en consideración la carencia de toxicidad, economía y fácil suministro del yoduro de potasio en comparación con los diversos

fármacos o recursos sugeridos para el tratamiento de la esporotricosis, se verá por razones obvias que es el medicamento de elección. Se han aconsejado las sulfamidas, la vacunoterapia con esporotricina, el dietilelbestrol, las sales de antimonio, el antibiótico X-5079C, la griseofulvina y la anfotericina B; y entre los recursos no farmacológicos se han empleado la radioterapia, y la aplicación de vapor de agua.

El procedimiento que aconsejamos para el suministro del yoduro de potasio es darlo en cucharaditas, principian-do, en un adulto, por 0.50 g y aumentando la misma cantidad diariamente hasta alcanzar 3 g, continuando con esta cantidad hasta unas 3 a 4 semanas después de haber obtenido la curación. Con las simples medidas de preferir yoduro de potasio químicamente puro, dar la cucharadita en leche y después de cada una de las tres principales comidas, jamás hemos observado fenómenos de yodismo que por su intensidad obliguen a la suspensión del tratamiento. Es sobradamente comentado el desconocimiento sobre la manera de actuar del yoduro de potasio, dado que el *Sporotrichum Schenckii* se desarrolla en medios de cultivo conteniendo 10% del fármaco. Recientemente apareció un estudio mostrando que existe mayor sensibilidad de la fase levaduriforme que de la micelial al yoduro de potasio, y aduciendo que la utilidad del fármaco en esta micosis radicaría en que la fase levaduriforme es la parasitaria; sin embargo, aunque esta fase muestra mayor sensibilidad al yoduro, éste no actuaría por acción fungistática, puesto que las concentraciones

necesarias para producir inhibición no se alcanzan en el organismo con las dosis terapéuticas usuales. Es interesante que el *S. Schenckii* no hace resistencia al yoduro de potasio, siendo común observar que los enfermos que suspenden el tratamiento y recaen vuelven a beneficiarse al reanudarlo.

miento de ese tipo y variedad de micetoma con la 4-sulfanilamida-5-6-dimetoxipirimidina (Fanasil<sup>(R)</sup>). Los ensayos preliminares con ese fármaco, iniciados en 1961, parecían mostrar cierta superioridad sobre la diamino-difenil-sulfona (DDS). La apreciación general de los resultados (Tabla 1) mostró que

TABLA 1

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO DEL MICETOMA ACTINOMICETICO POR *N. BRASILIENSIS*, CON DDS Y FANASIL<sup>(R)</sup> DURANTE UN LAPSO DE DOS A CUATRO AÑOS

Número de casos	Curación clínica	Mejoría evidente	Fracaso
162	48 casos (29.6%)	98 casos (61.1%)	16 casos (9.3%)

Como ya fue mencionado, en los casos de tipo hematógeno de la esporotricosis cutánea, o en las localizaciones ósea, pulmonar, hepática o, epididimaria, que no responden al tratamiento yodurado solo, conviene agregar griseofulvina al yoduro de potasio, y en situaciones graves inclusive anfotericina B.

En el síndrome micetoma o sea las tumoraciones fistulosas en las que el agente causal, sea un actinomicete o sea un moho, se presenta como acúmulos miceliales o microcolonias, el tratamiento es diverso, ya sea que se trate del tipo de micetoma actinomicético o que se trate del tipo maduromicótico. En el micetoma actinomicético, particularmente el causado por *Nocardia brasiliensis*, que es el más común, es posible obtener la curación con tratamiento médico en muchos casos. En trabajo presentado en el VI Congreso Internacional de Quimioterapia realizado en Viena en julio de 1967,<sup>2</sup> se mencionaban los resultados del trata-

miento con ambos medicamentos se obtenían aproximadamente 30% de curaciones después de lapsos de 2 a 4 años de tratamiento, mejoría evidente en 60%, y fracaso en 10%. Esta variabilidad en los resultados dependía de la extensión y antigüedad de las lesiones, y, principalmente, de la existencia o ausencia de invasión ósea.

Desde 1966 se iniciaron investigaciones con el trimetoprim en animales de laboratorio y en clínica, las que mostraron eficacia clínica transaditiva cuando se asoció ese fármaco a las sulfamidas; es decir, potencialización recíproca del trimetoprim y de diversas sulfamidas empleadas, particularmente al sulfamethoxazol. El trimetoprim, o la 2,4-diamino-5-(3',4',5'-trimetoxi-bencil) pirimidina, es una sustancia bacteriostática con acción antifólica (Fig. 1).

El sulfamethoxazol corresponde al 5-metil-3 sulfanilamido isoxazol (Fig. 2).

La asociación de estos dos fármacos (Ro 6-2580/11) interrumpe dos esta-

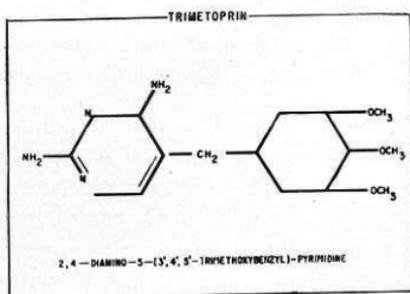


FIG. 1

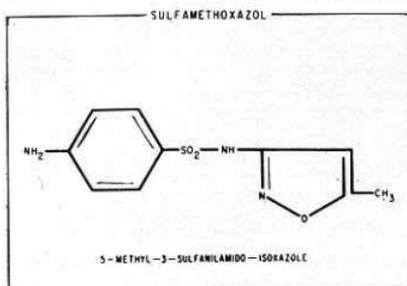


FIG. 2

dios sucesivos en el proceso metabólico esencial para la vida de los gérmenes susceptibles; este medicamento (Bactrim<sup>(R)</sup>) primeramente inhibe la enzima responsable de la síntesis del ácido dihidrofólico, y después a la enzima encargada de reducir esa sustancia hasta ácido tetrahidrofólico. Ambas inhibiciones bloquean la formación de DNA y RNA en los gérmenes sensibles, lo que acarrearía no sólo la imposibilidad de reproducirse sino la muerte.<sup>3-4</sup> Dichas acciones sucesivas son fuertemente sinérgicas, de manera que su eficacia aumenta diez veces con relación a la que se produciría al inhibir a cada enzima por separado. La acción de este

medicamento cubriría un amplio rango de bacterias Gram positivas y negativas, incluyendo *Salmonellae*, *Neisseriae*, *Escherichia coli*, *Proteus*, y muchas otras más.

No obstante que nuestros estudios *in vitro* sobre la acción del trimetoprim solo y asociado al Fansil, frente a *N. brasiliensis*, mostraron resultados carentes de interés, se decidió emplearlo en el tratamiento del micetoma por ese actinomicete, tomando en consideración que no siempre existe paralelismo entre lo que acontece *in vitro* y lo que acontece *in vivo*.<sup>5</sup> Los resultados que ahora se traen a colación (Tabla 2) no obstante el corto tiempo de observación (dos a diez y seis meses) y el número limitado de casos (20 enfermos) muestran resultados muy alentadores, puesto que en un lapso de 2 a 16 meses se obtuvo curación clínica en el 50% de los enfermos, mejoría franca en el 45% y solamente en un enfermo no se observó cambio, si bien en este caso después de dos meses de tratamiento hubo necesidad de suspender el medicamento durante un mes debido a la aparición de leucopenia, reanudándolo desde hace dos meses sin que se haya presentado nuevamente este efecto colateral.

El fármaco, presentado en forma de tabletas conteniendo 80 mg de trimetoprim y 400 mg de sulfamethoxazol fue suministrado siguiendo dos esquemas: el esquema N° 1, a la dosis de una tableta cada 12 hs. desde el inicio del tratamiento hasta la obtención de la curación clínica; y el esquema N° 2, a la dosis de una tableta cada 24 hs. que se instituyó una vez obtenida la curación clínica, para evitar la recaída;

TABLA 2

RESULTADOS DEL TRATAMIENTO DEL MICETOMA ACTINOMICETICO POR *N. BRASILIENSIS*, CON BACTRIM<sup>(R)</sup> DURANTE UN LAPSO DE DOS A DIEZ Y SEIS MESES

Número de casos	Curación clínica	Mejoría evidente	Fracaso
20	10 casos (50%)	9 casos (45%)	1 caso (5%)

este esquema que se ha prolongado en términos generales durante 8 a 12 meses ha consolidado la curación de manera que los pocos enfermos en que se ha suspendido, no han presentado recidiva. A guisa de ejemplo, se exponen unos cuantos casos curados.

Caso 1. (Fig. 3). Micetoma podal con invasión ósea de 9 años de evolución, que había sido tratado durante tres años con DDS y sulfamidas sin obtener mayor beneficio. Después de 10 meses de tomar dos tabletas de Bactrim<sup>(R)</sup> se obtuvo la curación clínica (Fig. 4) continuando con una tableta al día durante 4 meses más. Pasados 4 meses sin el medicamento no ha ocurrido recidiva.

Caso 2. Micetoma del tobillo sin lesión ósea, que había sido tratado con DDS durante 9 meses, lográndose ligera mejoría. Después de 5 meses de recibir dos tabletas de Bactrim<sup>(R)</sup> diarias se obtuvo la curación clínica continuando con una tableta diaria.

Caso 3. Micetoma localizado al antebrazo derecho sin invasión ósea con 9 meses de evolución. Después de 5 meses de tratamiento con dos tabletas de Bactrim se obtuvo la curación clínica continuando con una tableta diaria.

En el caso 4 de micetoma localizado a dorso de pie derecho de 6 meses de evolución y con mínima invasión ósea (Fig. 5), se obtuvo la curación clínica en 4 meses de tratamiento con dos tabletas al día (Fig. 6).

Como efectos colaterales indeseables se observa leucopenia, la que aparece tempranamente en algunos enfermos sometidos al esquema N° 1; pero en los que se obtiene la normalización de las cifras o el aumento por encima de 5000 mm<sup>3</sup> al pasar al esquema N° 2, pudiéndose así continuar el tratamiento

bajo estrecha vigilancia del enfermo, siendo raras las situaciones que obligan a la suspensión del medicamento.

La cromomicosis no tiene tratamiento eficaz; se han comunicado curaciones aisladas con multitud de fármacos y recursos terapéuticos; pero los resultados son de tal manera aleatorios que el tratamiento que tuvo éxito en un enfermo fracasa al emplearlo en el siguiente. Se han informado curaciones con electrocoagulación de las lesiones, la remoción quirúrgica seguida de injertos, la iontoforesis con sulfato de cobre, los rayos X, el yoduro de potasio, metales pesados, las sulfamidas, la vitamina D<sub>2</sub> asociada al yoduro de potasio, la anfotericina B intralesional, y últimamente, el tiabendazol, usado por Solano,<sup>5</sup> parecía una promesa; sin embargo aunque se llegaron a obtener mejorías evidentes en ninguno de los enfermos de la serie de 14 se consiguió la curación.

Recientemente apareció una comunicación acerca de un nuevo agente antimicótico: la 5-fluorocitosina (5-FC) señalando la utilidad evidente de este fármaco en la infección experimental del ratón con *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*,<sup>7</sup> y en diciembre del año pasado nosotros presentamos en el VII Congreso Centro Americano de Dermatología celebrado en Guatemala



FIG. 3. Caso Núm. 1. Micetoma con invasión ósea de nueve años de evolución.

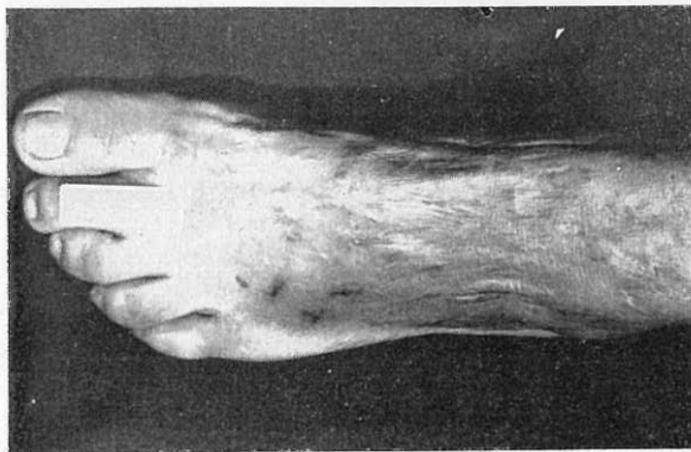


FIG. 4. Caso Núm. 1. Curación clínica obtenida después de diez meses de tomar Bactrim.<sup>(R)</sup>

en diciembre de 1959<sup>8</sup> una nota sobre la curación de dos casos de criptococosis y dos de cromomicosis, padecimiento este último en el cual no había sido señalada previamente la utilidad de este fármaco.

La fluorocitosina es un antimetabolito de la citosina de algunos hongos y la que aparentemente no actúa en la citosina de las células humanas (Figura 7).

Se presenta bajo la forma de tabletas



FIG. 5. Caso Núm. 4. Mictoma de seis meses de evolución con mínima invasión ósea.

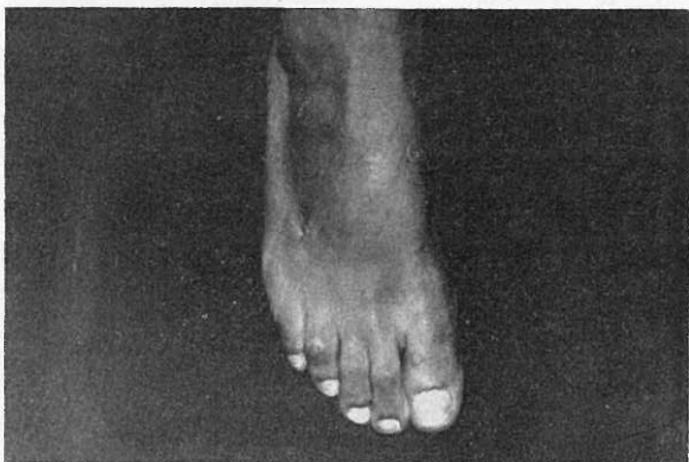


FIG. 6. Caso Núm. 4. Curación clínica obtenida en cuatro meses de tratamiento.

de 500 mg y la dosis aconsejada de manera convencional es de aproximadamente 100 mg/kg debiendo prolongar el tratamiento durante 4 semanas.

En los dos casos de cromomicosis curados con este medicamento, con un peso aproximado de 60 kg suministramos 10 tabletas diarias, dando tres des-

pués del desayuno, tres después del almuerzo y 4 después de la cena. El tratamiento que continuamos hasta obtener la curación clínica, no obstante lo aconsejado, en un caso fue obtenida hasta las 12 semanas, y el otro fue tratado durante 31 semanas, pero en ambos se hizo una suspensión por 8 semanas. Uno de los enfermos, cuya fo-

no hubo alteración clínica colateral, ni bioquímica ni hemática, más la facilidad del suministro del fármaco, obligan a aumentar la casuística. Aunque en nuestras manos este medicamento,

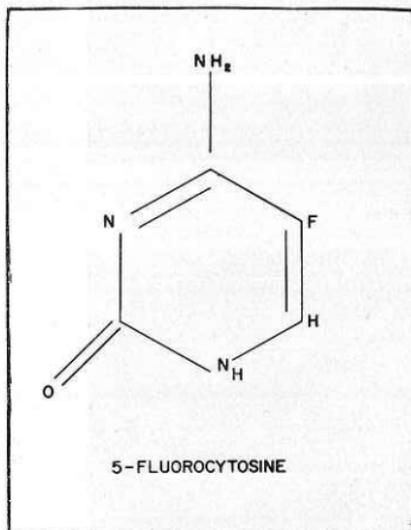


FIG. 7

tografía antes del tratamiento muestra (Fig. 8) las lesiones verrucosas de 20 años de evolución ingerió 1,100 g del fármaco obteniéndose la curación clínica después de 31 semanas (Fig. 9). En el segundo caso la cantidad total del fármaco ingerido fue de 400 g con lo que se obtuvo la curación clínica.

La carencia de efectos secundarios observada en nuestros enfermos ya que

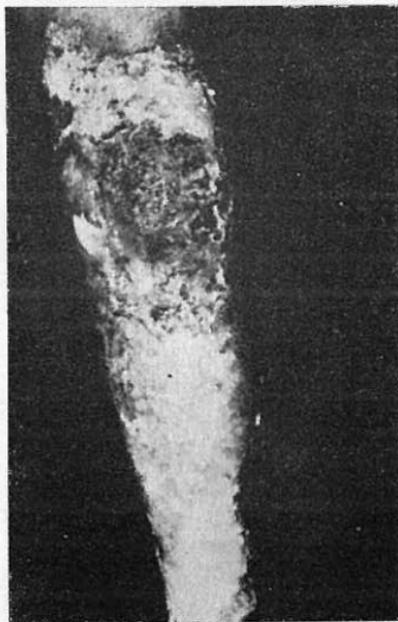


FIG. 8. Cromomicosis de 20 años de evolución.

empleado no sólo en los dos casos de cromomicosis mencionados sino en otros dos de criptococosis y en uno de moniliasis, resultó enteramente inocuo, Tassel y Madoff<sup>7</sup> mencionan un caso de pancitopenia que apareció a las 3 semanas de tratamiento con 4 g diarios, y Mayorga y cols.<sup>9</sup> mencionan otro caso con severa leucopenia que apareció también tempranamente.



FIG. 9. Curación clínica después de 31 semanas de tratamiento con 5-Fluorocitosina.

#### RESUMEN

El término convencional de micosis subcutáneas, por oposición al de cutáneas y al de viscerales, comprende la rinosporidiosis, la cromomicosis, la esporotricosis, y el micetoma. Este término es inadecuado puesto que las dos últimas micosis pueden tener localizaciones viscerales lo cual hace cambiar el pronóstico y hasta cierto punto el tratamiento.

Actualmente ni tan siquiera es posible imaginar cómo pudiera lograrse la prevención de las micosis subcutáneas. La razón estriba en que sus agentes etiológicos se encuentran atrincherados en los suelos y en las plantas de donde

no es posible erradicarlos; y, por otra parte, el hecho de que los padecimientos que originan sean esporádicos y no existan más antecedentes fuera de los ocupacionales que predispongan a su adquisición contribuyen a imposibilitar su prevención.

La rinosporidiosis no tiene más tratamiento que la extirpación quirúrgica de la lesión, sin que exista recurso medicamentoso alguno.

Para la esporotricosis se han sugerido multitud de fármacos y recursos, sin embargo el yoduro de potasio continúa siendo el auténtico tratamiento específico de la esporotricosis tegumentaria en los tipos linfagítico y fijo, es menos eficaz en el tipo hematógeno, e insuficiente cuando existen localizaciones óseas o viscerales, debiéndose en estos casos asociar la griseofulvina, y en situaciones graves la anfotericina B.

En el micetoma la situación es diversa si se trata del actinomicético o del maduromicótico. En el primero, particularmente el causado por *N. brasiliensis* que es el más frecuente, la diamindifenil-sulfona que principiamos a emplear desde 1947, y, posteriormente las sulfamidas de eliminación lenta, consiguen la curación en el 30% de los casos después de lapsos de dos a cuatro años de tratamiento, mejoría evidente en el 60% y fracaso en el 10%; la variabilidad de estos resultados depende de la extensión y antigüedad de las lesiones y muy particularmente de la invasión ósea o visceral. Recientemente hemos empleado el trimetoprim, una sustancia bacteriostática con acción antifólica, asociada al sulfamethoxazol, una sulfamida de eliminación lenta;

nuestra casuística que apenas alcanza 24 enfermos muestra curación clínica en el 50% de los casos en lapsos de 2 a 10 meses de tratamiento y mejoría evidente en el resto. En el micetoma maduromicótico no queda otro recurso que la amputación quirúrgica.

La cromomicosis no tiene tratamiento eficaz. Se han reportado curaciones aisladas con multitud de fármacos, pero los resultados son de tal manera aleatorios que el medicamento que tuvo éxito en un enfermo fracasa al emplearlo en el siguiente. Recientemente hemos obtenido la curación en dos casos con un nuevo agente antimicótico, la 5-fluorocitosina, un antimetabolito de la citosina de los hongos sensibles a este fármaco.

#### REFERENCIAS

1. González Ochoa, A.: *Clasificación clínica de las micosis*. Rev. Inst. Salubr. Enfs. Trops. 26: 1, 1956.
2. González Ochoa, A.; Stark, B. y Vázquez Ibarra, R.: *Fanasil in the actinomycetic mycetoma caused by Nocardia brasiliensis*. Proc. Fifth Internat. Congr. Chemoth. Viena, 1967.
3. Bushby, S. R. M. y Hitchings, G. H.: *Trimethoprim, a sulphonamide potentiator*. Brit. J. Pharm. Chemoth. 33: 72, 1968.
4. Reisberg, B.; Herzog, J. y Weinstein, L.: *In vitro antibacterial activity of trimetoprim alone and combined with sulfonamides*. Antimicr. Ag. Chemoth. 424, 1966.
5. González Ochoa, A. y Tamayo, L.: *Tratamiento del micetoma actinomicético por N. brasiliensis con Ro 6-2580/11*. Medicina (Méx.) 49: 473, 1969.
6. Solano, A. E.: *Tratamiento de la cromblastomicosis con thiabendazole*. Med. Cut. 3: 277, 1968.
7. Tassel, D. y Madoff, M. A.: *Treatment of Candida sepsis and Cryptococcus meningitis with 5-fluorocytosine*. JAMA. 206: 830, 1968.
8. González Ochoa, A.: *Curación de la criptococosis y de la cromomicosis con 5-fluorocitosina*. VII Cong. Centroamer. Dermatol. Guatemala, 1969.
9. Mayorga, R.: *Resultados preliminares del tratamiento con 5-fluorocitosina*. VII Congr. Centroamer. Dermatol. Guatemala, 1969.