

Los inductores de la síntesis de interferón endógeno ¿una posible opción terapéutica?

Noé Alvarado-Vásquez*

Susana Alcázar-Leyva†

Ma. Teresa Benítez-Rodríguez†

Heberto Alcázar-Montenegro†

Pedro Zamudio-Cortés*

Palabras clave: Inductores de interferón, polyA:polyU, ARNt, polyI:polyC, antivirales.

Key words: Interferon inducers, tRNA, polyA:polyU, polyI:polyC, antiviral agents.

RESUMEN

La linfocina conocida como interferón (IFN) existe en tres tipos principales ($-\alpha$, $-\beta$ y $-\gamma$), cada uno de ellos con diferente capacidad como agente antiviral, antitumoral o como inmunomodulador, estas características motivaron su aplicación exógena desde su descubrimiento como terapia para el tratamiento de diversos padecimientos, esto sin embargo, trajo consigo severos efectos secundarios. Con la finalidad de evitar los efectos colaterales del IFN exógeno, y de estimular la síntesis endógena en el organismo para aprovechar sus propiedades en la eliminación de alguna enfermedad (viral, tumoral, etc.), se han probado una enorme cantidad de compuestos, tanto de origen natural como sintético (inductores), lamentablemente hasta el momento no se ha encontrado al inductor idóneo, debido principalmente a factores, como: el tipo y grado de la infección o proceso tumoral, población estudia-

da, toxicidad de la molécula, etc., por estos motivos son necesarios la realización de un mayor número de trabajos para encontrar al mejor inductor, capaz de utilizarse con fines terapéuticos y que además muestre un mínimo de efectos secundarios al paciente al cual se aplique. En el presente trabajo se revisan algunos estudios que hablan de la utilidad, así como de los efectos secundarios de los inductores de la síntesis de IFN como el polyA:polyU, el polyI:polyC, polyI:polyC₁₂U, Ridostine, Bropiramine y de un ARNt de origen fúngico utilizados en el tratamiento de procesos infecciosos y tumorales.

ABSTRACT

Interferon (IFN) may be found in three main types ($-\alpha$, $-\beta$ and $-\gamma$), each with different capacity as antiviral, antitumoral or immunomodulator agents. These characteristics have motivated their therapeutic use since their discovery against various diseases. With the intention of stimulating their synthesis within the body and thus making good use of their properties in presence of some illness, numerous products of either synthetic or natural origin have been tested.

Unfortunately, the ideal inducer has not been found yet due to factors such as: type and severity of infection or tumoral process, studied population molecule toxicity, etc. For these reasons, more studies leading to find better inducers with greater therapeutic effects and minimal side effects are

* Laboratorio de Investigaciones en Farmacología, INER

† Instituto de Investigaciones Científicas Hans Selye, A.C.

Correspondencia:

Noé Alvarado Vásquez. Unidad de Investigación. Depto. de Farmacología. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Calzada de Tlalpan 4502, col. Sección XVI. México, D.F., 14080

needed. In the present work, some studies are reviewed which demonstrate that the application of inducers of IFN synthesis such as polyI:polyC, polyA:polyU, polyI:polyC₁₂U, Ridostine, Bropiramine and fungal tRNA, represent a good therapeutic option for the treatment of infectious and tumoral processes.

GENERALIDADES

El interferón (IFN) es una familia de citoquinas que se clasifica en tres tipos principales: IFN- α , - β y - γ . Se han observado diferentes capacidades en cada uno de ellos como agentes inmunomoduladores, antivirales o antitumorales, así como propiedades fisicoquímicas distintas (Tabla I). Desde su descubrimiento en 1957 por Issacs y Lindenman¹, se ha intentado utilizar a estas moléculas como agentes terapéuticos para el tratamiento de infecciones virales, bacterianas o bien para el control de problemas tumorales². Desde entonces, se ha propuesto usar moléculas capaces de promover en el organismo la producción de IFN endógeno con la intención de evitar los problemas que se sabe lleva consigo la administración de IFN exógeno (toxicidad, mialgias, costo, etc.) Para promover la síntesis de cada uno de los tipos de IFN, se necesitan moléculas con ciertas características, a este tipo de agentes se les denominan inductores de la síntesis de IFN; en el caso del IFN- α y - β se han utilizado principalmente ácidos nucleicos tanto de origen sintético como de origen natural, en el caso del IFN- γ su producción se ha estimulado con mitógenos, como por ejemplo la lectina fitohemaglutinina³. Con este fin se han probado experimentalmente numerosos compuestos, tanto naturales como sintéticos desde la década de los sesenta⁴, sin que hasta el momento se hayan logrado resultados contundentes al respecto, motivo por el cual se trabaja de manera intensa sobre este tema en la actualidad.

Aplicación de inductores de la síntesis de IFN en padecimientos infecciosos

Uno de los inductores de la síntesis de IFN usado más extensamente es el polyI:polyC, el cual se ha utilizado tanto en animales como en el ser humano para el control de distintos procesos infecciosos^{5,6}. En el ratón se ha empleado una variante de este inductor en combinación con anticuerpos específicos para el tratamiento de infecciones intracraneales por alfavirus⁷, encontrándose protección aún con el proceso infeccioso ya avanzado.

También se observó un nivel aceptable de protección contra infecciones por el virus de la influenza⁸. Al valorar la capacidad de este tipo de molécula para inducir la síntesis de IFN, así como el grado de protección proporcionado ante el virus de la encefalomiелitis equina en primates, se observó una disminución en la mortalidad y en la cantidad de virus en suero⁹. También en primates, se ha encontrado que el polyI:polyC es capaz de inhibir la infección por *Plasmodium cynomolgy*, lo cual sigue su empleo para el tratamiento de padecimientos de este tipo en el hombre¹⁰.

En humanos, los inductores de IFN se han utilizado principalmente para el control de procesos tumorales y virales. Es interesante mencionar que los efectos biológicos observados parecen depender directamente de la población en la cual se realiza la observación. En el hombre, un inductor de la síntesis de IFN conocido como polyA:polyU, se ha aplicado para el control de la hepatitis crónica activa, dando como resultado una disminución en el grado y concentración de marcadores biológicos de la infección. Un aspecto importante es que no se presentaron efectos secundarios en estos individuos^{11,12}. En estudios *in vitro* con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), se ha encontrado que el polyI:polyC₁₂U (una variante del polyI:polyC) retarda la tasa de multiplicación viral y aumenta la producción de la 2', 5'-oligoadenilato sintetasa, uno de los principales mecanismos antivirales de la célula¹³. Cuando se aplica este mismo inductor en pacientes con este tipo de afección, se ha encontrado inhibición de cepas del HIV resistentes al tratamiento con AZT; observándose un efecto sinérgico al utilizar en combinación el polyI:polyC₁₂U con AZT, sin efectos tóxicos para la médula ósea¹⁴. Lo mismo se confirmó en otro trabajo, en el que se demostró la restauración de la función inmune en individuos infectados por el VIH (con un número de células CD4+ $\geq$ a 300 células/mm³) tratados con el polyI:polyC₁₂U, lo cual redujo el riesgo de desarrollar la enfermedad¹⁵.

Los inductores de la síntesis de IFN han sido usados también para tratar infecciones producidas por el virus productor del herpes simple, *in vitro* se ha logrado inhibir su multiplicación utilizando inductores de IFN¹⁶, *in vivo* con lo que disminuyen los síntomas gracias a la estimulación de la síntesis de IFN y a la activación de las células citotóxicas naturales¹⁷. Otro padecimiento viral en el cual se han utilizado agentes capaces de promover la producción de IFN (Ridostine), es el

Tabla I. Características fisicoquímicas de los tres principales tipos de interferón (IFN)

Tipo de IFN	Peso molecular	Subtipos	Principal célula productora	Lábil a pH = 2	Lábil A 56 °C
Alfa	18-20kDa	22	Leucocitos	No	No
Beta	23kDa	1	Fibroblastos	No	No
Gamma	20-25 kDa	1	Linfocitos	Sí	Sí

herpes genital recurrente del humano. Se observó la producción de IFN- α , de IFN- γ y un aumento de la actividad de las células citotóxicas naturales, lo que da bases para su aplicación en pacientes con este tipo de problema¹⁸.

Aplicación de los inductores de la síntesis de IFN en el tratamiento de procesos cancerosos

Se ha experimentado con este tipo de moléculas para el tratamiento del cáncer desde hace varios años con resultados contradictorios. Por ejemplo, Levy reportó en 1969 que el polyI:polyC era capaz de inhibir el crecimiento tumoral en ratones¹⁹, en tanto que otros autores no consideraron adecuado el uso de este tipo de agente por su baja capacidad como inductor de la síntesis de IFN²⁰. Debido a estos resultados, los inductores originales de IFN han sido modificados químicamente con la intención de mejorar su capacidad como promotores de la síntesis de esta citoquina. Algunos promotores de la síntesis de IFN como el polyA:polyU se han empleado en combinación con agentes quimioterapéuticos como tratamiento coadyuvante en el cáncer de estómago²¹, se ha mencionado que se mejora ligeramente el curso de la enfermedad; resultados similares se han visto en pacientes con melanoma maligno, en donde la aplicación del polyA:polyU proporciona grandes periodos asintomáticos en comparación con el grupo testigo, si bien es cierto que los autores no encuentran aumento en el tiempo de sobrevivencia²². Khan y cols, proponen como una opción adecuada el uso del polyA:polyU para pacientes afectados por problemas tumorales, por sus efectos positivos en la inmunidad celular y humoral, ya que aumenta el periodo libre de enfermedad así como el tiempo de sobrevivencia²³. A pesar de estos resultados, aún existen dudas sobre su utilidad y eficacia como terapia alternativa en el control de los procesos neoplásicos. Recientemente se han descrito nuevos resultados en donde el polyA:polyU es bien tolerado a dosis relativamente elevadas (3-600 mg/m²), en pacientes con procesos malignos avanzados en las que los efectos secundarios observados son los más comúnmente encontrados, una elevación de la temperatura, fatiga, mialgias, cefaleas, prurito. En este trabajo los autores no encontraron cambios en la concentración de linfocinas como IL-6, IL-12 o factor de necrosis tumoral (TNF), únicamente hay aumento en la concentración de la enzima 2',5'-adenilato-sintetasa lo cual limita la respuesta biológica²⁴. Otro agente experimentado como inductor de la síntesis de IFN en pacientes con cáncer es la bropirimina (un inductor de interferón oral). Con su aplicación se presentan varios efectos secundarios como: malestar general, fiebre, náusea con vómito, anorexia, cefalea, taquicardia y anomalías en las pruebas de laboratorio (disminución del número de leucocitos), lo cual limita su aplicación y marca la necesidad de realizar un mayor número de estudios, es importante recalcar sin embargo, que con su uso se ha logrado disminuir el tamaño del tumor y los síntomas clínicos; además, en un pequeño número de

sujetos tratados se ha reportado aumento en la concentración de IFN²⁵. Una posible explicación para la mejoría observada en algunos casos en donde se ha administrado el polyA:polyU, probablemente tenga que ver con la capacidad de éstos para promover la linfopoyesis en pacientes con cáncer avanzado²⁶.

Perspectivas de la aplicación de inductores de la síntesis de IFN

En la evaluación del efecto de la aplicación de los inductores de la síntesis de IFN se debe de considerar: las características de la población en la cual se desarrolla el estudio, el grado de avance y tipo de infección o de tumor tratado, la toxicidad de la molécula administrada, y su capacidad para resistir los mecanismos de degradación naturales de la célula (por ejemplo el efecto de las nucleasas). A pesar de las limitantes que esto conlleva, se puede concluir que la aplicación de este tipo de moléculas es una buena opción terapéutica, que si bien no puede utilizarse con la misma eficacia en cualquier proceso infeccioso o tumoral, existen enfermedades donde los resultados obtenidos hasta el momento indican su eficacia y las ventajas de su uso tanto en problemas virales^{14,27}, como tumorales²⁴. Es importante mencionar que si bien no se ha podido determinar cuantitativamente la presencia de los interferones en diferentes experimentos realizados, si se ha encontrado un incremento en la cantidad de ARNm en varios de ellos, tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*, lo cual nos habla de la presencia en cantidades extremadamente pequeñas de las linfocinas, imposibles de determinar cuantitativamente, pero sí probablemente capaces de mostrar efectos biológicos. A pesar de la incapacidad para determinar cuantitativamente a la linfocina esperada (IFN), si se ha encontrado en la mayoría de los trabajos reportados tanto *in vitro* como *in vivo* la activación de un sistema enzimático muy importante (dependiente de la presencia de IFN), este es el de la 2',5'-oligoadenilato sintetasa que produce pequeños oligonucleótidos conocidos como 2-5 A de una gran actividad biológica, ya que activan a la ribonucleasa L (RNase L) capaz de degradar ARN viral, de inhibir a la topoisomerasa 1 la cual es importante en la duplicación del ADN celular así como en la integración de ADN viral al genoma celular, y de actuar impidiendo la función de la retrotranscriptasa inversa en el caso de los retrovirus²⁸.

Esto podría explicar los efectos biológicos observados aún en ausencia de la citoquina en los estudios realizados. A este respecto, hay que mencionar la capacidad de algunos inductores de IFN de promover la síntesis de linfocinas en cantidades detectables, como por ejemplo de IFN-gamma, IL-2, IL-6²⁹.

Otro aspecto interesante a considerar en este tipo de tratamientos es con respecto a la toxicidad del agente utilizado como inductor. Uno de los más inocuos es el polyI:polyC₁₂U, ya que se ha administrado a sujetos sanos en un amplio rango de concentraciones sin mostrar efectos secundarios graves, lo que nos hablaría de su utilidad como terapia de soporte, sólo o en combinación

con otros agentes para el tratamiento de diversas enfermedades, con la ventaja adicional de no mostrar efectos secundarios graves³⁰.

Actualmente se valora la capacidad de un ARNt de origen fúngico como molécula inductora de la síntesis de IFN tanto en modelos *in vitro* como *in vivo*; como ejemplo de los resultados obtenidos se ha observado una mayor protección de células en cultivo infectadas por adenovirus tipo 6 e incubadas previamente con el ARNt, en donde se encontró una protección similar a la proporcionada por IFN recombinante y mejor a la encontrada en células incubadas con el polyI:polyC. El ARNt es capaz además, de inhibir la multiplicación de virus como el herpes simple, virus sincicial respiratorio *in vitro*, en el humano se estimula la síntesis de IFN total³¹, IFN-gamma y del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) a las dos horas de su aplicación³², con mínimos efectos secundarios en algunos pacientes, reducidos a los síntomas de un cuadro gripal que desaparecen a las 24 horas.

Esta revisión nos muestra que aun cuando existen moléculas como el polyI:polyC, U o el ARN de origen fúngico los cuales promueven la síntesis de diferentes linfocinas o la activación de sistemas enzimáticos biológicamente importantes (2',5' oligoadenilato sintetasa), sin provocar efectos colaterales severos al paciente, no existe aún una molécula capaz de ser considerada como el inductor ideal: De aquí la importancia de seguir trabajando con productos naturales o sintéticos como los mencionados, que muestren efectos secundarios mínimos y sean capaces además, de estimular la producción de IFN endógeno en el organismo, para ayudar en el control de padecimientos como los ya mencionados y con la finalidad de evitar los problemas presentes con la utilización de IFN recombinante como toxicidad, daños a médula ósea, mialgias, artralgias, fiebre, náusea, vómito, somnolencia, anorexia, y en casos graves neuropatía periférica y trombocitopenia^{33,34}, así como desarrollo de respuesta inmune en contra de la linfocina recombinante³⁵, la cual se administra actualmente para el tratamiento de problemas virales y tumorales.

Por tanto, el uso de inductores de la síntesis de IFN endógeno es una terapia adecuada sola o en combinación con otros agentes terapéuticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas y cancerosas.

Agradecimientos: A la Dra. Aurora Tapia y al C.D. Héctor de la Rosa por sus valiosas correcciones y comentarios al manuscrito original.

REFERENCIAS

- Issacs A, Lindenmann J. *Virus interference. I. The interferon*. Proc R Soc Lond (Biol) 1957; 259: 67.
- Zarcone R, Bellini P, Cardone G, Cardone A. *Chemotherapy and cervical cancer: present trends* Eur J Gynaecol Oncol 1996; 17: 148-150.
- Torrence FP, De Clercq E. *Interferon inducers general survey and classification*. Methods Enzymol 1981; 78: 291-99.
- Billiau A, Schonne E. *Induction of the interferon mechanism by natural RNA*. Life Sci 1970; 9: 69-78.
- Levy HB, Baer G, Baron S, Buckler CE, Gibbs CJ, Adarola MJ, et al. *A modified polyribonucleoside-polyribocytidylic acid complex that induces interferon in primates*. J Infect Dis 1975; 132: 434-439.
- Kimura-Takeuchi MA, Majde JA, Thot LM, Krueger J. *The role of double-stranded RNA in induction of the acute-phase response in an abortive influenza virus infection model*. J Infect Dis 1992; 166: 1266-1275.
- Coppenhaver DH, Singh IP, Sarzotti M, Levy HB, Baron S. *Treatment of intracranial alphavirus infections in mice by a combination of specific antibodies and an interferon inducer*. Am J Trop Med Hyg 1995; 52: 34-40.
- Wong JP, Saravolac EG, Sabuda D, Levy HB, Kende M. *Prophylactic and therapeutic efficacies of poly(I:C.LC) against respiratory influenza A virus infection in mice*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 2574-2576.
- Stephen EL, Hilmas DE, Levy HB, Spertzel RO. *Protective and toxic effects of a nuclease-resistant derivative of polyribonucleoside-polyribocytidylic acid on Venezuelan equine encephalomyelitis virus in Rhesus monkeys*. J Infect Dis 1979; 139: 267-272.
- Pury SK, Dutta GP, Levy HB, Maheshwari RK. *Poly ICLC inhibits Plasmodium cynomolgi B malaria infection in rhesus monkeys*. J Interferon Cytokine Res 1996; 16: 49-52.
- Hahn KB, Han KY, Kim WH, Yim DS, Chon CY, Moon YM, et al. *Efficacy of polyadenylic, polyuridylic acid in the treatment of chronic active hepatitis B*. Int J Immunopharmacol 1994; 16: 217-252.
- Salmeron EFJ. *Tratamiento alternativo al interferón en la hepatitis crónica viral*. Gastroenterol Hepatol 1995; 18: 430-436.
- Ushijima H, Rytik PG, Scheffer U, Muller WE, Schroder HC. *Mode of action of the anti-AIDS compound poly(I). poly(C₁₂U) (ampligen): activator of 2',5'-oligoadenylate synthetase and double-stranded RNA-dependent kinase*. J Interferon Res 1993; 13: 161-171.
- Gillespie D, Hubbell HR, Carter WA, Midgette P, Elsasser W, Mullaney R, et al. *Synergistic inhibition of AZT-resistant HIV by AZT combined with poly(I):poly(C₁₂U), without synergistic toxicity to bone marrow progenitor cell elements*. In vivo 1994; 8: 375-381.
- Thompson KA, Strayer DR, Salvato PD, Thompson CE, Klimas N, Molavi A, et al. *Results of a double-blind placebo-controlled study of the double-stranded RNA drug polyI:polyC₁₂U in the treatment of HIV infection*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996; 15: 580-587.
- Barron B, Hernández A, Sandoval H. *Herpes simplex virus infection in primary neuronal cultures and antiviral activity of dsRNA*. Rev Latinoam Microbiol 1993; 35: 165-169.
- Potekhaev NS, Nosik NN, Samgin MA, Kudratullaev KN, Lavrukina LA. *Experience with the combined treatment of recurrent herpes using larifan and a herpetic vaccine*. Klin Med (Mosk) 1992; 70: 67-70.
- Cheknev SB, Mikovskaia OI, Meshkova EN, Khaldin AA, Samgin MA, Malinovskaia VV. *The natural killer activity and indices of the interferon status of patients with recurrent genital herpes being treated with ridostin*. Vopr Virolog 1994; 39: 125-128.
- Levy HB, Law WLL, Rabson SA. *Inhibition of tumor growth by polyinosinic-polycytidylic acid*. Proc Natl Acad Sci USA 1969; 62: 357-361.