

ESTADO ACTUAL DE LOS ESTUDIOS SOBRE LA INTERFERONA

Por el

ILMO. SR. D. ANGEL SÁNCHEZ FRANCO

Excelentísimos e Ilustrísimos Señores,

Señoras y señores:

Solamente vuestra generosidad y benevolencia, al juzgar mis escasos méritos ha podido proporcionarme el inmerecido honor de ser recibido en esta Academia.

Por ello deseo expresar mi gratitud a todos los Sres. Académicos, que han tenido la gentileza de admitirme en esta Docta Corporación. Y deseo proclamar, en este acto solemne, mi promesa de colaborar leal y sinceramente en esta Academia, pues yo estimo que el título de Académico no lo es solamente de alarde y de vanagloria, sino de función y oficio; por ello debemos prometer trabajar sin descanso hasta fundirnos, en este postulado como es: trabajar para hacer el bien.

Pecaría de injusto si no dedicase unas palabras de gratitud al ilustrísimo Académico y compañero de Facultad Dr. D. Jesús Sáinz y Sáinz Pardo, que con su gentileza me trae de la mano a este, para mí inolvidable acto de recepción. Su formación científica y su amistad son el mejor padrino y ello hará que me confiera la debida serenidad para recibir el privilegio otorgado por los restantes Académicos.

Como final del prólogo debo dedicar unas palabras a nuestro Ilustre antecesor, en esta Real Academia, Ilmo. Sr. D. Pedro Ramón Vinós.

Deseo confesar que me asusta el pensar que pueda ser yo, quien venga a ocupar la vacante que dejó tan ilustre persona, pues vosotros, Académicos que me hacéis el honor de escucharme, compartisteis con él las tareas y estoy seguro, que en vuestras mentes perdurarán durante mucho tiempo, las nobles y sabias palabras que vertió en esta docta casa.

Aunque no tuvimos el honor de conocer a D. Pedro Ramón Vinós, sí habíamos leído algunos de sus interesantes y magníficos trabajos. *Histopatología y clínica del cáncer. Comentarios al problema del cáncer. El anatomopatólogo en la solución de algunos problemas de diagnóstico y pronóstico en Patología. Reacción local del organismo a la invasión cancerosa y Teoría virásica del cáncer.*

En todos ellos se puede apreciar una gran inquietud por los problemas patológicos, y con especial interés los dedicados al estudio de la etiopato-

genia del cáncer, tema preferente de sus investigaciones y de cuyo resultado habrá que esperar todavía algún tiempo para demostrar si sus experiencias sobre la teoría vírica del cáncer son ciertas o no, pero lo que sí se puede asegurar es que de sus estudios y trabajos de investigación se sacarán resultados de positivo interés para las ciencias biológicas.

Nosotros, modestamente y como homenaje a un gran hombre, que dedicó su vida al estudio y a la investigación, hemos deseado persistir en el tema que él cultivó con interés y cariño, y por ello queremos dedicar este trabajo al estudio de la Interferona, problema tan íntimamente ligado a los procesos patológicos producidos por virus.

ESTADO ACTUAL DE LOS ESTUDIOS SOBRE LA INTERFERONA

ISAACS, y LINDERMAN, 1957, demostraron que el virus Influenza era capaz de producir un inhibidor antiviral, el cual denominaron Interferona. Posteriormente, distintos investigadores, continuaron estos estudios, llegando a la conclusión de que este fenómeno hay que incluirlo dentro de un concepto biológico más que como un fenómeno químico.

Basándose en los conocimientos estudiados por los distintos autores, en el momento actual, la Interferona se define como una sustancia segregada por las células sometidas a la acción de un primer virus y que inhibe por su presencia, durante un cierto tiempo, el desarrollo de otros virus, en las células que le han dado origen, o en otras que entren en contacto con ellas (GORET).

Para poder estudiar mejor este fenómeno es necesario conocer los dos elementos principales que entran en juego: la célula y el virus.

Aunque JENNER sospechó la presencia de un virus como agente etiológico de la viruela, fueron LOEFFLER y FROSCHE estudiando un proceso infeccioso de los bóvidos, quienes señalan la presencia de un agente invisible a través del microscopio, lo que les hizo sospechar que se trataba de agentes ultramicroscópicos. Desde aquella época los estudios de los virus se han ido sucediendo y actualmente son conocidas su morfología, las dimensiones y también su estructura. El microscopio electrónico, la ultracentrifugación, los cultivos de virus en medios hísticos han permitido llegar a conocer todos los caracteres de estos agentes.

Es conocido que los virus no poseen el equipo enzimático suficiente para asegurar su propia multiplicación, necesariamente tiene que ser un parásito obligado de la célula por lo que para asegurar su multiplicación tienen que integrarse dentro del metabolismo celular y tomar de ésta los factores necesarios para sus funciones vitales.

Los estudios bioquímicos de los virus han llegado a precisar los componentes de algunos de ellos, virus como el de la vacuna en el cual se han identificado hidratos de carbono, lípidos, varias proteínas, cobre, biotina y riboflavina.

Los estudios más modernos han comprobado que los virus contienen ácidos nucleicos ADN (desoxivirus) o ARN (ribovirus). Estos ácidos nucleicos están constituidos por nucleótidos, que comprenden un ácido fosfórico, una pentosa y una base púrica (adenina y guanina) o pirimidínica (citosina, metilcitosina, uracilo y tiamina).

Algunos virus poseen una envoltura de naturaleza mucopolisacárida que es de origen mixto, viral y celular.

Aunque el conocimiento de la penetración y multiplicación de los virus animales todavía es escaso, parece guardar en líneas generales cierto parecido con la multiplicación de los virus bacterianos y vegetales.

La primera fase de acercamiento estaría favorecida por una acción enzimática del virus que favorecería su unión sobre los receptores celulares.

En cuanto a la entrada del virus en la célula parece ser que están implicados dos fenómenos, una fijación electrostática y una fijación enzimática.

Según GORET y PROVOST, en fases posteriores, el ácido nucleico viral se integra en el ciclo nuclear de los ácidos nucleicos celulares, y estas células durante el corto período de su vida, fabricarán únicamente la nucleoproteína vírica. Es la muerte de la célula por desaparición de sus estructuras normales, las cuales son reemplazadas por las estructuras víricas.

Hemos partido de una célula sensible al virus, pues en otro caso la célula rechaza la nucleoproteína extraña, la metabolizará y asimilará para la elaboración de sus propias nucleoproteínas. Ello daría lugar a la sobrevivencia y curación de la célula y también de la asimilación del elemento exógeno, lo que constituye al "primum movens" de la inmunidad tisular, sobre la que se establece la resistencia adquirida (LEPINE, citado por OVEJERO).

Es precisamente en esta fase que hemos descrito donde se elaboran diversos productos y entre ellos, especialmente, la interferona, lo cual permitirá a la célula rechazar otros virus invasores a los que era sensible. Podremos ver también cómo la interferona interviene protegiendo las células que la han absorbido, por lo que debe ser considerada como uno de los factores de la inmunidad celular y, por tanto, del organismo.

INTERFERONA

Como es sabido, en el curso de las enfermedades víricas se forman anticuerpos específicos que persisten en el torrente sanguíneo, a veces hasta la muerte del individuo. Por ello es natural que se atribuya a los anticuerpos un papel en la superación de las infecciones víricas.

Sin embargo, recientemente, se ha observado que los individuos enfermos de "hipogammaglobulinemia" hacen frente a muchas infecciones víricas a pesar de que sólo pueden formar vestigios de anticuerpos. También se han obtenido resultados parecidos en animales de experimentación que habían sido tratados con rayos Roentgen, y que superaron la infección vírica sin formar una cantidad de anticuerpos significativa.

Estas y otras razones llevaron a ISAACS, a pensar que los anticuerpos no parecen desempeñar un papel importante en la superación de las infecciones víricas. También ha podido ser comprobado que el suero de los conejos inoculados con virus del Herpes carecen de acción sobre el virus herpético, mientras que el cerebro de estos animales destruye, "in vitro", el virus, y que la mezcla cerebrovirus, puede ser inoculada sin riesgo alguno a nuevos conejos receptibles.

Una célula parasitada por un virus tiene una resistencia a la infección de otro virus del mismo o perteneciente a otro grupo.

Por primera vez fue JENNER quien apreció cómo las lesiones vacunales variolosas se presentaban con menor regularidad en presencia del virus herpes. Fue también revelado que monos infectados con virus de la Fiebre del valle del Rift, resultaban protegidos contra la Fiebre amarilla y que este fenómeno denominado interferencia viral, no era debido a una respuesta inmunitaria, por formación de anticuerpos. Continuando estos estudios se aprecia que monos infectados con virus de la Coriomeningitis linfocitaria no presentaban parálisis cuando habían sido infectados anteriormente con virus de la poliomielitis, por otra parte la médula espinal de los monos infectados contenía menor cantidad de virus de polio que en los monos de control, de lo que se deducía la existencia de una inhibición de la multiplicación del virus.

También se llegó a demostrar que virus inactivado por el calor o por los rayos ultravioletas pueden inducir a la producción de interferona.

Entre los virus que inducen a las células a la formación de interferona se encuentran los mixovirus, pox virus, arbovirus, enterovirus y otros grupos. La formación de interferona está determinada por la infectividad, dosis, cepas y virulencia del virus inductor. Estudios con fragmentos de membrana alantoidea, revelaron que el virus influenza inactivado, por radiaciones ultravioleta, estimula la producción de interferona más eficientemente que los virus inactivados por el calor, o los virus patógenos. En contraste, los mixovirus, arbovirus, o enterovirus inactivados fallan en la producción de interferona.

También hay que señalar que los virus avirulentos estimulan a las células a la formación de mayor cantidad de Interferona que los virus virulentos. ENDERS, fue el primero en demostrar que los poliovirus atenuados presentan un gran poder de producción de Interferona.

En algunos casos se ha demostrado lo contrario, puesto que las distintas cepas de virus vacunantes de la Enfermedad de NEWCASTLE son relativamente pobres inductores de interferona en las células embrionarias del pollo, en contra de lo que ocurre con las cepas virulentas que producen una mayor cantidad de interferona.

Posteriores investigaciones han demostrado que células estimuladas por la infección vírica producen una sustancia antivírica, la interferona; se puede imaginar esta formación como una reacción inmunitaria de las células frente a la infección vírica, al contrario de lo que sucede con la formación de anticuerpos, a cargo de determinadas células especializadas, las

cuales reaccionan de esta forma, ante la penetración en el organismo de las sustancias llamadas *antígenos*.

La interferona impide la difusión de la infección, desempeñando un papel en el proceso curativo. Se ha demostrado ya firmemente que la interferona interviene para neutralizar las infecciones víricas.

La célula infectada sintetiza al mismo tiempo virus e interferona, pero se trata de un fenómeno reversible y no definitivo en cuanto aparece con la infección y desaparece después de la multiplicación celular.

Desde el año 1956, en que A. ISAACS y colaboradores iniciaron sus estudios sobre este problema, el cual, dado su interés, se ha intensificado en todos los países, y por numerosos autores tratando en investigaciones relacionadas con el fenómeno de la interferencia.

El fenómeno de la interferencia, muy difundido en Virología, se basa en la propiedad que poseen numerosos virus de determinar en la célula parasitada, un estado refractario hacia una segunda infección viral, que invade las células poco tiempo después de la primera.

La interferona se puede describir como una sustancia antivírica natural, que se opone a la acción de muy diversos virus. Las células de las aves, roedores y muchos maníferos, incluido el hombre, responden a la infección vírica produciendo interferona. El nombre de esta sustancia ha nacido en el estudio del bien conocido fenómeno de la interferencia entre los virus.

La interferona formada en la célula puede salir de ésta, pasar al medio que la rodea y venir a ejercer una acción protectora, sobre las células vecinas. Su papel protector es de índole general, no específico y su estudio tiene gran interés para el conocimiento del metabolismo de la célula normal.

El vertebrado adulto responde a la infección produciendo interferona en el lugar donde se multiplica el virus, en las primeras etapas de la infección. Después el animal produce un anticuerpo específico, y esto conduce a una prolongada resistencia a la infección por el mismo virus. En algunas infecciones víricas puede desarrollarse también una hipersensibilidad retardada. Resulta difícil valorar la contribución que corresponde a cada uno de estos factores y de muchos otros, tales como la fiebre en el proceso de recuperación de la infección vírica. Parece, sin embargo, que el papel de los anticuerpos es menos importante de lo que se creyó en principio.

Se ha demostrado que la acción de mayor o menor intensidad de los virus sobre las células depende de varios factores. Porque se supone que es la producción de interferona uno de los principales factores que condicionan la virulencia —ya que en algunas enfermedades, como el sarampión y la poliomielitis, los virus menos patógenos producen mayor cantidad de interferona que los de mayor virulencia—.

Entre la virulencia de los virus y la producción de interferona existe una característica común. No constituyen propiedades aisladas de un virus sino su acción en relación con un grupo particular de células. Así está demostrado en el caso de la pseudopeste aviar. El virus es muy virulento en los pollos adultos y en los embriones, crece bien en las células de embrión de pollo "in vitro" y produce bajos rendimientos de interferona. El mismo

virus muestra escasa virulencia en el hombre, crece mal en las células humanas "in vitro", pero induce a la producción de interferona en grandes cantidades.

El mérito de ISAACS, LINDERMAN, BURKE y colaboradores es haber demostrado que este fenómeno es interpuesto por una macromolécula de naturaleza proteica, pues se forma cuando el virus vivo o muerto está en condiciones de invadir una célula huésped. Esta sustancia aislada en la primera capa de la célula se la conoce con el nombre de interferona de las AA. por los que la descubrieron y es capaz de inhibir el crecimiento de un gran número de virus; se comporta como un antibiótico antiviral de gran espectro.

Se comprende el interés suscitado por el descubrimiento de esta sustancia, no sólo desde el punto de vista teórico, para obtener un mejor conocimiento de los problemas que conciernen al fenómeno de la interferencia y su mecanismo, sino a la importancia en el campo de la terapéutica antiviral.

El gran interés suscitado por el descubrimiento de la interferona ha llevado en Inglaterra a la constitución del Comité Nacional para Investigación Médica de la Universidad de Glasgow y los Laboratorios Glaxo Chemical Industry and Wellcome Research Laboratories.

Después de haber obtenido alentadores resultados sobre animales, se ha iniciado la fase de investigación clínica y así, recientemente, ha aparecido un informe del Comité científico de investigación Médica sobre la interferona, refiriéndose al descubrimiento de las lesiones del virus vacunal inoculado por vía intradérmica.

PRODUCCIÓN INTRACELULAR DE LA INTERFERONA

Hemos señalado que en el estudio de la interferona intervienen dos elementos principales: la célula y el virus. Refiriéndose a este último, podemos decir que el virus es parásito obligado de la célula viva, por no poseer equipo enzimático para asegurar su propia multiplicación, es decir, que según frase de GORET "para un virus no hay vida sin vida".

La interferona, como algunos autores han considerado, no es un antibiótico interno (DELAUNAY), ya que solamente aparece cuando las células son sometidas al ataque de un virus. El contacto viral o al menos el contacto con un ácido nucleico viral, y la integridad de la célula receptiva, son, como decíamos antes, los dos factores necesarios para su producción. Las interferonas producidas por diferentes virus sobre un mismo tipo de células tienen actividades biológicas parecidas, por lo cual se evidencia que el mecanismo productor de la interferona es celular. Esta es, por lo tanto, producida dentro de la célula, lo que se demuestra por el hecho de que continúa segregándose durante 96 horas después del tratamiento inductor por el virus y además, es posible una segunda recogida después de una posterior aplicación de virus inactivado. Las células tienen pues el metabolismo alterado y el proceso de la respuesta viral está modificado en la producción de interferona.

No es indispensable que las células que la produzcan sean normalmente sensibles al virus inductor. POLINKOFF ha podido demostrar que las células de riñón de cerdo o embrión de hamster, sometidas a un virus gripal, al que son insensibles, producen interferona.

La interferona no es tóxica, incluso a grandes dosis para las células, sin embargo, en éstas se puede apreciar un cambio temporal de la morfología que, para las células de tipo epitelial, se transforman en tipo fibroblástico. La interferona no dificulta la división celular; las células de tiroides humano se dividen al mismo ritmo en presencia de interferona.

De todo lo que hemos expuesto se puede llegar a la conclusión de que la interferona se produce en las células como respuesta a la acción de los ácidos nucleicos virales. Es la respuesta celular a una introducción de ácido nucleico extraño a la célula; la interferona puede ser considerada como un medio de defensa de la célula, es decir, un agente que ellas oponen a la invasión por un virus.

Diversas hipótesis han sido formuladas sobre el mecanismo bioquímico de la interferona.

Basado en datos y estudios de investigación, WAGNER llega a considerar que la interferona se comporta modificando la reacción metabólica que conduce a la síntesis vírica.

Actualmente se concibe un virus como ácido nucleico envuelto en una cubierta proteínica, perfectamente ajustada y dispuesto a transmitir sus "instrucciones" a la célula para sintetizar otros virus. En un principio la síntesis de un ácido nucleico del virus y de los ácidos nucleicos celulares normales, se describieron a veces como procesos superpuestos, de tal modo análogos que sería imposible afectar a uno sin hacerlo simultáneamente el otro. Si fuera así, resultaría imposible evitar la duplicación del virus sin perjudicar a la reproducción normal de las células. Existen, sin embargo, pruebas recientes de la independencia de ambos procesos. El tratamiento de las células con actinomicina D, que inhibe la síntesis del ácido ribonucleico (ARN) celular normal, sin inhibir la duplicación de ciertos virus ARN. La mitomicina inhibe en las células la síntesis del ADN celular normal y no la duplicación del adenovirus ADN. La independencia de los dos procesos apoya la idea de que puede ser posible una inhibición de la síntesis de los ácidos nucleicos víricos, sin inhibir el mismo proceso celular normal; esto puede ocurrir en células tratadas por interferona.

La primera reacción de la célula a la infección vírica es la síntesis de los enzimas necesarios para la síntesis del ácido nucleico del virus. Bajo la influencia de la ARN polimerasa vírica, que es probablemente distinta de la normal, los nucleótidos se unen para formar ARN vírico. Después es sintetizada la proteína de la envoltura del virus, que se funde con el ácido nucleico, para producir partículas víricas maduras, que entonces son liberadas por la célula. En algunas infecciones, la multiplicación del virus conduce a la desorganización completa de la célula, pero en la mayor parte de las infecciones víricas hay un elemento de ordenación en lo referente al proceso de la multiplicación. La síntesis del ácido nucleico y proteínas ví-

ricas no continúa indefinidamente, sino que de ordinario se detiene y permite a la célula recuperarse de la infección. Esto implica que existen reguladores demostrado por JACOB y MONOD, en relación con la infección de la *E. Coli* por el bacteriófago y con los procesos de inducción enzimática. La interferona es, sin duda, un regulador de esta clase en las células animales.

Cuando se tratan las células con grandes cantidades de interferona, que inhiben en gran manera el crecimiento del virus, el ritmo de la división celular no resulta inhibido apreciablemente.

La inhibición se produce, sin embargo, cuando las dosis de interferona son excesivamente altas, pero se recupera el ritmo normal de la división celular cuando la interferona se retira. Parece demostrado que la interferona inhibe mucho más intensamente la síntesis de las sustancias víricas, que la de las mismas sustancias de los procesos metabólicos normales.

La interferona no inhibe la adsorción del virus por las células o la penetración de aquel en éstas, lo que hace es bloquear la multiplicación del virus en una etapa posterior a la de separación del ácido nucleico y proteínas víricas, pero antes que el ácido nucleico se haya duplicado; aunque no se conoce en la actualidad el proceso mediante el cual se impide la síntesis del ácido nucleico vírico.

La acción de la interferona y su producción por la acción de los virus fue demostrada primariamente con virus inactivados, pero en la actualidad se ha conseguido estimular la producción de interferona mediante ácidos nucleicos no víricos, pero "extraños" a las células estimulantes. Es evidente que la interferona desempeña un papel en la economía de la célula normal, relacionada con la síntesis de los ácidos nucleicos.

Los estudios de los efectos metabólicos de la interferona fueron investigados por A. ISAACS. Después de haber confirmado que las células tratadas con interferona producen una cantidad de ácido láctico tres veces superior que las células de control y que consumen una cantidad mayor de CO_2 , aunque entre límites modestos e inconstantes, el autor realizó investigaciones sobre la influencia de la interferona en el metabolismo celular de los glúcidos siempre en relación con su actividad antiviral. A este respecto ha formulado, mediante estudios experimentales, tres hipótesis de las cuales señalamos las dos primeras por considerarlas más importantes.

La primera se refiere a la acción antiviral de la interferona, la cual puede ser debida al aumento de la glucólisis que habría provocado una disminución del pH o bien un aumento de la concentración de lactato. Los resultados obtenidos demostraron que la interferona no actúa muy eficazmente en condiciones de una acidez muy débil, y que en las mismas, produce una disociación en el comportamiento de la interferona y del 2-4 nitrofenol; la interferona presenta un grado mucho mayor de inhibición en comparación al dinitrofenol, el cual en cambio estimula más fuertemente la glucólisis. Los autores por tanto concluyen que no es probable que la inhibición de la multiplicación viral pueda ser atribuida al aumento de la glucólisis.

La segunda hipótesis considera que la interferona inhibe la producción de ribosa, disminuyendo la oxidación de la glucosa por medio de las pen-

tosas. ISAACS ha observado que los fibroblastos de embrión de pollo tratados con interferona presentan un conjunto de modificaciones metabólicas, tras las cuales hay un aumento de la glucólisis anaerobia análoga a la que induce el 2-4 dinitrofenol, sustancia que tiene actividad "in vitro" y que actúa bloqueando la fosforilización oxidativa; aunque la interferona puede influir por este mecanismo y limitar la cantidad de ATP (adenosintrifosfórico) disponible para la síntesis viva, esta hipótesis estaría confirmada en razón del comportamiento particular de la célula cancerosa. Se ha observado por Ho y ENDERS, que células cancerosas (células HELA y KB) estando en el momento de producir interferona son insensibles a la acción antiviral; tal insensibilidad puede ser admitida en relación al hecho de que la célula cancerosa está en el grado de formar ATP necesario para su crecimiento mediante procesos de tipo anaerobio. Según WARBUG la glicólisis provee a la célula cancerosa de suficiente ATP, para la necesidad metabólica y por tanto la fosforilización oxidativa no tiene la misma importancia que para la célula normal. De este modo se comportan las células embrionales jóvenes que asemejan a las cancerosas en cuanto se considera la intensidad de la glicólisis anaerobia y por su refractariedad a la acción antiviral de la interferona. Esto puede explicar el hecho de que las infecciones humanas por algunos virus den lugar a malformaciones solamente cuando la infección se produce en el primer trimestre de la gestación, por ser éste el período de mayor sensibilidad al virus, debido a la escasa o nula producción de interferona en él mismo.

Sobre el mecanismo de la interferencia se han dado numerosas explicaciones e hipótesis, para demostrar este fenómeno. La destrucción de los receptores virales de la membrana celular para impedir la fijación de otros virus, hecho improbable puesto que se necesitarían importantes cantidades de virus interferentes para bloquear todos los receptores celulares. Por otra parte, se ha demostrado que el virus interferido puede penetrar también en la célula.

También se ha señalado y asimismo rechazado, una acumulación de virus en el interior de la célula. Como es difícil admitir la presencia de lesiones celulares por el primer virus, lo que provocaría un medio disgénico para el segundo virus, pues hay que tener en cuenta que con virus inactivados se produce interferona.

La necesidad de algunas horas después de la primoinfección viral para que aparezca el fenómeno de la interferencia, hace pensar que un proceso metabólico tiene que producirse durante este intervalo, por lo que nos parece más acertada la hipótesis señalada por ISAACS.

Casi todos los virus son capaces de producir interferona; los virus Arbor y los mesovirus (igualmente el virus de la gripe) son los más activos, pero también lo son los enterovirus, los virus variólicos y los oncogénicos (sarcoma de Rous); la capacidad de inducir interferona es una propiedad general de los virus que parasitan las células.

Los mesovirus también inactivados por el calor o por los rayos ultravioletas conservan el poder inductor a condición de que se inocule a las célu-

las con una dosis masiva de estos virus. Los virus inactivados con rayos ultravioleta son mejores inductores que los inactivados por el calor.

Con un virus inactivado e inoculado a dosis masivas, la interferona aparece rápidamente y su producción alcanza el máximo en algunas horas, mientras que con un virus infectante, la interferona aparece paralelamente a la producción de las partículas virales hijas y alcanza el máximo solamente después de que el título infectante ha llegado al máximo.

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS Y BIOLÓGICAS DE LA INTERFERONA

Las propiedades biológicas y biofísicas de la interferona han sido estudiadas. Se ha demostrado que la interferona contiene una sustancia no común con las partículas víricas y estable frente a los cambios de pH y las temperaturas.

La naturaleza proteica de la interferona se había supuesto inicialmente, basada en algunas propiedades tales como la estabilidad e inactivación por parte de los enzimas proteolíticos. El peso molecular se ha calculado aproximadamente sobre 70.000 mediante el coeficiente de difusión atravesando un gel de agar. Sólo recientemente BURKER ha logrado obtener un preparado de interferona altamente puro que ha permitido comprobar la naturaleza proteica.

La interferona resiste un pH de 1 a 10 durante 24 horas a 2°C. Su actividad se modifica ligeramente por la conservación de 0°C durante 2 semanas. Se destruye a 100°C en 5 minutos; la temperatura de 56°C la resiste una hora y es completamente destruida en este mismo tiempo a 60°C.

La ultracentrifugación durante 4 horas a 100.000 r.p.m. no provoca pérdida de actividad interferente en el sobrenadante.

La actividad interferente es relativamente resistente a las irradiaciones ultravioleta.

El tratamiento con ultrasonidos no tiene efecto sobre la interferona.

El tratamiento con éter o con la mezcla de alcohol amílico-cloroformo inactiva completamente la actividad interferente.

La interferona es completamente inactivada por la pepsina y tripsina.

Todos los autores están de acuerdo que la interferona no representa la proteína viral ni un fragmento de la misma. Al contrario que los anticuerpos virales, la interferona se produce en escaso tiempo después de la infección vírica y desaparece alrededor de las 96 horas como máximo. Los anticuerpos aparecen tardíamente y después de la fase aguda de la enfermedad persistiendo durante mucho tiempo.

Recientemente ISAACS examinando los factores que intervienen en el desarrollo de una enfermedad infecciosa, en ratones infectados artificialmente con desarrollo de una neumonía viral, ha podido demostrar que la interferona está presente en concentraciones relativamente elevadas en el pulmón, en el momento en que existe la máxima concentración vírica, mientras que los anticuerpos aparecen en este órgano solamente 10 días más tarde.

La actividad de la interferona se puede medir añadiendo soluciones de interferona a diluciones progresivas sobre cultivos de tejidos, que posteriormente son inoculados con virus cuyo poder infectante sea conocido; el grado de protección de la interferona sobre los cultivos se basa en la inhibición de la multiplicación viral o también por la inhibición de las lesiones celulares.

Las células por ejemplo de amnios humano son buenas productoras de interferonas y son sensibles a su acción; inoculadas en presencia de interferona se hacen resistentes a la acción viral.

Las células tumorales humana en línea continua, buenas productoras de interferona, son poco sensibles a su acción, puesto que no permiten a ésta ejercer su acción antiviral sobre la célula.

Se ha demostrado que la acción protectora de la interferona está ligada a la especie celular que la ha producido; así una interferona segregada por las células de un ternero protegen a estos mejor contra la acción de un virus que la producida en el pollo. Pero tal especificidad no es absoluta porque la interferona de células de riñón de mono protege "in vitro" a las células de origen humano.

El efecto protector de la interferona no sigue la ley del "Todo o nada".

APLICACIONES TERAPÉUTICAS Y PRÁCTICAS DE LA INTERFERONA

Interesa considerar en estos momentos la posibilidad del empleo terapéutico de interferona en el hombre. Actualmente el problema no presenta grandes posibilidades de una próxima realización, debido a la especificidad de la especie en la preparación de interferona. Sin embargo, WAGNER considera la posibilidad de sustituir la aplicación de interferona exógena por el tratamiento con virus atenuado capaz de estimular intensa y rápidamente la producción de interferona endógena, y recuerda que éste podría ser el mecanismo por el cual la vacuna poliomielítica obtenida de un tipo de virus atenuado provoca la resistencia frente a la enfermedad causada por un tipo de virus diferente.

Hasta ahora se han realizado algunas tentativas de aplicación de interferona en el hombre sin que se aposable señalar conclusiones. Sin embargo, se puede citar la prueba realizada con 38 voluntarios por CANTELL y TOMMILA, en 1960, los cuales fueron vacunados contra la viruela previo tratamiento con la interferona y en los que se apreció un alto grado de protección en relación con los controles, a los cuales no se les había inoculado interferona. Igualmente JONES cita siete casos de queratitis, en los cuales se observaron efectos curativos sobre la evolución de la infección.

En estudios sucesivos se ha demostrado que la interferona producida a partir de cultivos de células renales de mono instilada en el ojo determina la cicatrización rápida de las lesiones ulcerativas epiteliales de la queratitis variolosa y también de la reacción inflamatoria de la vacunación antivariólica, siempre que con anterioridad se haya realizado una inoculación intradérmica de interferona.

La interferona asimismo puede dar lugar a problemas de epidemiología y de patogénesis viral. Según PREVOT la acción nociva de la corticoterapia en las enfermedades producidas por virus se puede explicar por la acción de inhibición que ejerce la cortisona sobre la producción de la interferona así como sobre su acción.

El fenómeno de la interferencia viral tiene aplicaciones variadas; citaremos algunas que atañen especialmente a la Medicina Veterinaria. En el dominio de las vacunaciones el fenómeno no es evidente más que con virus-vacunas vivos, atenuados o modificados. Como regla general la resistencia hacia el virus salvaje virulento conferida por la vacunación se revela de 2 a 4 días después de esta última, mucho antes de la aparición de anticuerpos neutralizantes.

Se puede sacar provecho de esta resistencia en la vacunación contra:

—La peste bovina con la ayuda de vacuna caprina modificada por pases sobre cabras (Interferencia en 48 horas), o sobre conejo (Interferencia en 104 horas).

—Enfermedad de Rubarth con la ayuda de virus avirulento inoculado por vía conjuntival (Interferencia en 4 días).

—La enfermedad de Newcastle apareciendo la interferona dos días después de la absorción en el agua de bebida de la cepa HITCHNER B₁.

—La peste porcina, en la que el virus vacuna lapinizado o de tejidos confiere la protección en los cerdos después de 4 días de la inoculación.

Visto bajo este ángulo, el fenómeno de interferencia tiene un valor inestimable en Medicina y Veterinaria; es por su aplicación razonada que pueden combatirse las grandes epizootias con un rápido poder de difusión, tales como la peste bovina, porcina y aviar. Es la que autoriza la vacunación en medio contaminado, donde la esperanza reside en que un número importante de animales no estén aún contaminados.

Es seguro que este es el mismo principio en que se funda la vacunación contra la gripe humana, o digestiva contra la poliomiélitis cuando se interviene en los momentos de una epidemia de una comunidad. Paradójicamente es así mismo el fenómeno de la interferencia, el que suministra la explicación de ciertos fracasos de la vacuna antipolio por vía bucal. En Méjico se observaron fracasos de vacunación en comunidades de niños. Una encuesta epidemiológica probó que albergaban enterovirus que interferían el desarrollo intestinal normal y de virus-vacuna polio. La misma explicación fue dada en Suiza, pero en este caso fue un virus Coxsakie el que fue aislado de las heces.

Estas observaciones que hemos señalado con referencia a la poliomiélitis son aplicables a la enfermedad de Newcastle, pues en muchas ocasiones hemos asistido a problemas de diferentes grados de inmunidad en lotes de aves de la misma o distinta granja con la aplicación del mismo lote de vacuna y, sin embargo, los resultados han sido muy diferentes, aunque es lógico pensar entre otros muchos factores que pueden intervenir en los fenómenos inmunitarios, no es menos cierto que en muchas ocasiones la vacunación se realiza coincidiendo con procesos latentes o asintomáticos de bronquitis o de otras enfermedades de localización en el árbol respiratorio, cu-

vos virus producirán o pueden producir una interferencia heteróloga (SÁNCHEZ FRANCO).

No podríamos dejar de evocar la vacunación contra la mixomatosis del conejo por el virus del papiloma de Shope, que se funda en el doble concepto de propiedades inmunógenas comunes y en una interferencia muy precoz que empieza alrededor de las 18 horas y autoriza la intervención en el medio infectado.

No intentaremos citar las aplicaciones de la interferencia con fines experimentales; son una legión, ya que el fenómeno ha intrigado a los virólogos desde que fue conocido.

Si el virus aftoso es citopático en los cultivos celulares, la destrucción celular debida al virus Newcastle es menos patente, casi inexistente en algunas cepas; de ahí una fórmula para la titulación de ese último virus sobre células. DANNACHER y FERIDA han pensado utilizar la interferencia que ejerce el virus de Newcastle en cultivos celulares de riñón de ternera en frente de virus aftoso, para poder titular cómodamente el primero; si existe en un tubo virus Newcastle, que no produce lesiones en las células, producirá una interferencia para el virus aftoso, que debe introducirse en un segundo tiempo y éste no manifestará su efecto de destrucción celular. En los tubos donde las células están intactas, se puede estimar que existía virus Newcastle. De esta forma se posee un método fácil de valoración del virus últimamente indicado.

Así mismo este fenómeno ha sido utilizado por el Dr. SÁNCHEZ BOTIJA para el diagnóstico diferencial entre la peste porcina africana y la peste porcina clásica.

GIRARD, en 1964, ha conseguido la producción de interferona por la interacción del cultivo de epitelio lingual bovino en supervivencia (cultivo de FRENKEL) e igualmente del virus aftoso.

Continuando los estudios en la investigación de la interferosa debemos citar los trabajos del Prof. TORLONE y sus colaboradores en 1965; los cuales han realizado unas investigaciones de gran interés sobre la producción de interferona en cerdos previamente infectados con virus de peste porcina.

Las pruebas fueron llevadas a cabo en cerdos de 12 semanas de edad, los cuales fueron inoculados con 1 c.c. de virus peste porcina patógeno. Después de 60 horas la temperatura ascendió a 41°C y se sacrificaron después de las 96 horas de la infección.

En pruebas posteriores confirmaron las hipótesis de que la actividad antiviral detectable en el suero de los cerdos infectados con virus peste era debida a la interferona. Con relación al tiempo de producción "in vivo" de esta sustancia llegaron a la conclusión de que aparece rápidamente en la sangre, incluso antes de que se eleve la temperatura y que persiste después de la viremia.

Estos trabajos de TORLONE vendrían a confirmar los de LHOFF, realizados en 1959, el cual ya había minimizado el papel de los anticuerpos en la curación de una enfermedad por virus y había pensado que la fiebre que se manifiesta en el enfermo, era uno de los factores importantes. Esta concepción se apoyaba en la constatación tantas veces conocida de la inhibición

del desarrollo viral a una temperatura superior a la de su huésped de origen. Tal como nosotros hemos mencionado anteriormente, las temperaturas ligeramente hipertérmicas favorecen la producción de interferona. De ahí a preguntarse, como ISAACS, si la fiebre del enfermo no tendrá primordialmente el efecto de estimular la producción de interferona, no hay más que un paso. En efecto, se ha podido demostrar en el hombre (ISAACS, 1963) que su producción era paralela a la severidad de una infección viral.

Era lógico pensar que dados los numerosos estudios que, por numerosos investigadores y en todos los países, se están realizando sobre hipótesis vírica del cáncer no podía dejar de relacionarse esta enfermedad con los conceptos actuales de la interferona. Es cierto que ningún virus cancerígeno humano ha podido aún ser aislado, aunque parece permitido poder trasladar al hombre lo que se sabe de los llamados tumores animales; que son debidos a virus incluso aunque los virus no hayan podido ser aislados nuevamente de los tumores.

ATANASIU, CHANY y BARSKI han significado que los virus oncógenos animales son sensibles a la interferona, ya que los virus sensibles a la interferona son los que la producen normalmente en las células. Se encontrarían entonces en ciertas circunstancias, las condiciones de una infección celular crónica explicando la larga latencia de la infección. Posteriormente cuando interviniera un factor desencadenante, el virus, se desarrollaría. Esto es precisamente lo que ocurre con el metil-colantreno, agente cancerígeno conocido, con el cual DE MAYER llegó a demostrar que inhibía la producción intracelular de la interferona. Vemos como de esta forma se encuentran unidas las teorías víricas y químicas del cáncer.

El virus oncógeno infectante de un grupo celular se desarrollaría inmediatamente después de la infección o bien después de la acción desencadenante que hemos señalado, pero en ambos casos produciendo interferona. Así, el virus oncógeno sería el "primus movens", pero el tumor se constituiría sin virus lo que explicaría la dificultad de poner en evidencia agentes oncógenos en su seno.

Aunque esta hipótesis no permite que sea generalizada, ha sido demostrada para el virus del polio, agente cancerígeno de hamster en el que produce sarcomas subcutáneos.

Como puede observarse la terapéutica de las infecciones por virus se encuentra frente a una nueva perspectiva; la experimentación deberá confirmar si se trata verdaderamente de un nuevo paso decisivo para el bien de la Humanidad.

Hemos visto como la Biología se afana en conseguir la última verdad de los hechos vivos, aunque no se ignora que "delante de nosotros siempre está el infinito" (SANT HILAIRE) y también que si un día se llegara a encontrar la primera causa de la vida, no haría otra cosa que encontrar nítidamente a Dios, porque sino lo encontrara las investigaciones habrían recorrido el camino del error (MORROS SARDA).

BIBLIOGRAFIA

- ANDREWS, R. D. (1961), *Brit. Med.* June, pp. 21-30.
- BARON, Se ISAACS, A. (1961). *New Scientisc.* 11, p. 81.
- BARON, S. and BUCKLER, C. F. (1963). *Scienza.* 141 (1061).
- BARON; S. DU BUY, H. G. BUCKLER, C. E. JHONSON, MI. (1964). *Proc. Soc. Exp. Biol (N. Y.)* 117/2: (338-341).
- BENDINELLI, M. RUSCHI, A. and SNATOPADRE, C. (1963). *Riv. Ittal. Igiene.* 23/5: (418-429).
- BURKE, D. C. ISAACS, S. (1958). *Acta Virology.* Vol. 4, pág. 452.
- BURKE, D. C. and BUCHAN (1965). *Virology (N. Y.)*. Vol. 26, núm. 1, págs. 28-36.
- CANTELL, K. TOMMILA, V. (1960). *Lancet*, 2.628.
- CLEVELAND, C. (1954). *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)* 115/4 (947953).
- CHESJIRE (1954). *Virology (N. Y.)* 24/4 (589-597).
- DELMON, J. and DUTRIES, T. M. (1964). *Res. Immunol.* 28/3 (157-128).
- DINTER, Z. et PHILIPSON, L. (1962). *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, 109 (875-879).
- FINTER, N. H., ONEIL, C. E. (1964). *Virus Unit. Gal.*
- FINTER, N. B. (1964), *J. Hyg.* 62/23 (337-349).
- FRIEMAN, R. M. (1946). *Ant. Brancha Nat. Cancer. Inst. Setheeda. Med.* 201/4921 (848-84).
- FRIEDMAN, R. M. et RAMSON, A. S. (1964). *J. Exp. Med. T.* 119, págs. 71-81.
- GASCOW, L. A. et HABEL, K. (1962). *J. Exp. Med. (N. Y.)* t. 115, págs. 503-512.
- GLASKY, A. J. SIMON, L. and HOLPER, J. C. (1964). *Science (N. Y.)* 144/3.686 (1581-158).
- GORET y A. PROVOST. (1964). *Rec. Med. Vet.* núm. 5-6.
- GRAND (1964). *Publ. Helt. Uny, Pittsburgh. Science* 146/365, págs. 1472-1474.
- GRESSER, I. (1961). *Proc. Nat. Acad. Sci. T.* 47, págs. 1817-1822) (N. Y.).
- GRESSER, I. (1961). *Prod. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, T. 108, págs. 303-307.
- GROSSBERG, S. E. and SCHERER, E. (1964). *Amer. J. Path.* 45/3, págs. 519-531.
- HELLSTROM, I. (1964). *J. Nat. Cancer. Inst. Biol.* 33/2, págs. 209-213.
- HENLE, N. (1963). *Virology (N. Y.)*, T. 21, págs. 11-21.
- HENLE, W. (1963). *Immunol. T.* 9191, págs. 140-150.
- HENSON, S. and SMITH, R. D. (1964). *Prod. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, 117/2, págs. 4517.
- HERMODDSSON, S. (1964). *Acta. Path. Microbiol.* 62/1, págs. 133-144.
- HERMODDSSON, S. (1963). *Virology (N. Y.)*, T. 20, págs. 333-343.
- ISAACS, A. LINDENMANN, J. (1957). *Prov. Boy. Coc. (London)*, S. R. 147, págs. 268-450.
- ISAACS, A. BRUKE, D. C. FADEEVA, L. (1958). *Brit. Path.* 39, pág. 447.
- ISAACS, A. ESTOWOOD, M. A. (1959). *Lancet*, 2, pág. 324.
- ISAACS, A. (1961). *Sci. Basis. Mod. (ann. Rev.)*, págs. 21-30.
- ISAACS, A. POTERFIELD, J. S. BARON, S. (1961). *Virology*, 14, pág. 450.
- ISAACS, A. KKEMPERER, H. G. HITCOK, G. (1961). *Virology*, 13, pág. 191.
- JONES, B. R. FALBRAITH, J. E. K. et AL-HUSSAINE, M. K. (1962). *Lancet*, T. 1, págs. 875-879.
- LAMPSON, G. D. TYTELL, A. A. NEMES, M. M. et HILLEUAN, M. R. (1963). *Proc. Soc. Expe. Biol. (N. Y.)*, T. 197, págs. 724-725.
- LE CLERE, J. (1965). *Acta Virol. Institutio Pasteur de Bruselas*, 9/1, págs. 18-24.
- LEVY, H. B. SNELLBAKER, L. F. et BARON, S. (1963). *Virology*, T. 21, págs. 48-55.
- LINDERMANN, J. et GIFFORD, G. E. (1963). *Virology*, T. 19, pág. 283-293.
- LOCKART, R. Z. (1963). *J. Bact.* T. 85, págs. 556-566.
- MAHDY, N. S. (1964). *Proc. Sec. Exp. Biol. (N. Y.)*, 116/1, págs. 174-177.
- MORROS, J. (1956). Discurso en la Universidad de Oviedo.
- OVEJERO, S. (1963). Discurso, Real Acad. Med. Valladolid.
- PALLIKEFF, R. DONIKIAN, M. A. PADRON, A. et. coll. (1962), *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, T. 110, págs. 232-234.
- PAUCKER, K. (1964). *Clin. Pediat. (Filadelfia)*, 3/11, págs. 661-678.
- PERIES, J. BOINON, M. et CANIVET, M. (1965), *Annales del Institut. Pasteur*, T. 109, número 4, octubre.

- PAUCKER, K. CANTELL, J. (1962). *Virology* (N. Y.), T. 18, pág. 45.
- PEROL, Y. (1964). *La Presse Medicali*, núm. 72, pág. 21.
- PLUMMER, G. (1963). *Brit. J. Exp. Path.* T. 44, págs. 58-65.
- PIRKO POHJANPELTO (1965). *Virology* (N. Y.), Vol. 25, núm. 3, págs. 350-357.
- PRINZIE, P. DENIS, P. SCHONNE, E. (1962). *Virology*, T. 16, págs. 63-70.
- ROTEM, Z. (1964). *J. Exp. Med.* (Israel). 11/4, págs. 174-178.
- ROBERT. R. (1963). *Annual Review of Microbiology*. Col. 17, págs. 265-270.
- SÁNCHEZ FRANCO, A. *Public. Symposium. Patolo-Aviar.* Tarragona, 1965.
- SCHULMAN, J. L. et KILBOURNE, E. D. (1963). *Proc. Soc. Exp. Biol.* (N. Y.), T. 113, páginas 431-435.
- SRCEVALSAN, T. et LOCKART, R. Z. (1962). *Virology* (N. Y.), T. 17, págs. 207-208.
- TAYLOR, Joice (1965). *Virology* (N. Y.). Vol. 25, núm. 3, págs. 341-349.
- TORLONE, V. TITOLI, P. and L. GIALLETTI (1965). *Life Science*. Vol. 4, págs. 1707-1713, Gran Bretaña.
- VALTUEÑA BOSQUE (1964). *Pres. Pediatría y Puericultura*. Vol. 7, Fascículo 3.º, Madrid.
- VILCEK, J. (1961). *Acta Viraol.* T. 5, págs. 278-282. —
- VILCEK, J. (1962). *Acta Viro.* T. 6, págs. 144-150.
- VILCEK, J. ET. STANCER, D. (1963). *Acta Viro.* T. 7, págs. 331-338.
- WAGNER, R. LEVY, A. H. (1960). *Ann. New York, Acad. Sci.* 88-1308.
- YOUNGER, J. S. (1964). *Science*, 144: 1022. May.