

LA QUIMIOTERAPIA EN LAS INFECCIONES HUMANAS POR VIRUS¹

I

BIOQUIMICA DE LA REPLICA VIRAL

DR. FRANCISCO SALIDO RENGELL²

LA UNIÓN de un virus con una célula, da lugar a una entidad biológica diferente, que recibe el nombre de complejo "virus-célula", con características comunes a las de otros complejos, pero también con atributos propios, tal como ocurre entre los individuos de una misma especie. Con algunos complejos "virus-célula", que han servido como modelos biológicos experimentales, se han demostrado o inferido muchos de los hechos que tienen lugar durante las fases de réplica viral.

La célula puede representarse esquemáticamente como un conjunto de compartimentos limitados por sistemas membranosos constituidos por folíolos dobles de lipoproteína, que parecen proceder de una misma estructura. La membrana nuclear parece una porción especializada del retículo endoplásmico

y éste a su vez representa una extensión de la membrana celular. Los sistemas membranosos celulares, juegan un papel importante en la reproducción viral.

Las partículas infectantes entran a la célula en vesículas fagocíticas que se forman al invaginarse la membrana celular durante la pinocitosis. Las mitocondrias, parte importante de los sistemas membranosos, son asiento de la fosforilación oxidativa, que proporciona la energía para los procesos biosintéticos. Algunos virus después de ser ensamblados maduran sobre los sistemas membranosos, de donde toman una envoltura o clámide que envuelve al virus por fuera de su cápsula

Es particularmente importante comprender los mecanismos que permiten la síntesis de ácidos nucleicos y proteínas. En las células, la mayor parte del ácido desoxirribonucleico (DNA) está localizado en el núcleo donde forma

¹ Simposio presentado en la sesión ordinaria del 14 de septiembre de 1966.

² Instituto Nacional de Virología, Secretaría de Salubridad y Asistencia.

parte de los cromosomas. Ahí, transcribe la información genética que contiene a los 3 tipos del ácido ribonucleico (RNA). El RNA mensajero sirve de molde en la síntesis de proteínas; sobre él se graba la clave que contiene el gene. La secuencia de nucleótidos que lo caracteriza, se traduce por secuencias de aminoácidos. El RNA ribosómico es un componente estructural de los ribosomas. Durante la síntesis proteica, cada ribosoma se une íntimamente con su respectiva molécula de RNA mensajero para formar entre ambos los polisomas, que pueden o no estar asociados con el retículo endoplásmico. El RNA-transferente o soluble, funciona como transporte de los aminoácidos activados para colocarlos en la posición que les corresponde de acuerdo con el código del DNA impuesto en el RNA-mensajero. El DNA es una doble banda helicoidal, en tanto que el RNA-mensajero y el RNA-ribosómico están dispuestos en una sola banda helicoidal. El RNA-transferente, aunque es también una sola banda de nucleótidos, está doblado sobre sí mismo y presenta entonces regiones que parecen estar formadas por doble banda helicoidal.

En la réplica del DNA, cada una de sus bandas de nucleótidos, funciona como molde para que sobre ella se acomode la contraparte correspondiente; la DNA-polimerasa cataliza la reacción. La RNA-polimerasa en cambio promueve la síntesis de RNA sobre el molde codificado que le proporciona el DNA. La presencia de una enzima ensambladora interviene a su vez en la síntesis de proteínas. La síntesis de RNA, sólo ocurre en el núcleo; la sín-

tesis de proteína puede ocurrir en el núcleo o en el citoplasma.

Una vez que el virus penetra a la célula hay un intervalo de tiempo, el período de eclipse, durante el cual no es posible demostrar al virus. Este período es, por lo general, más corto en los virus que contienen RNA, que en los que contienen DNA. También los virus de RNA tienen menos material genético de 2 a 3×10^6 U.P.M., por partícula que los virus de DNA que tienen un exceso complementario mayor de 3×10^6 U.P.M., frecuentemente 10^7 o más U.P.M.^{1, 2}

En general, puede decirse, con algunas excepciones, que los virus de RNA se multiplican en el citoplasma y los virus de DNA lo hacen en el núcleo. Algunos virus se complementan con una clámide de procedencia celular. A la eclosión los virus que contienen RNA son liberados en mayor cantidad que los virus que contienen DNA, con excepción de los *reovirus* que siendo de RNA se liberan en escasa cantidad; la mayoría de las partículas quedan asociadas a la célula. El virus del herpes simple, es la excepción de los virus de DNA. La célula libera las partículas infectantes en forma explosiva. Los demás miembros del grupo de los *herpesvirus* (varicela-zóster) siguen la pauta que es característica de los virus que contienen DNA.

Los eventos que se llevan al cabo durante la reproducción viral son en orden de ocurrencia los siguientes:

1. Adsorción, penetración y eclipse.
2. Biosíntesis de productos virus-inducidos.
3. Ensamble y maduración.

4. Eclosión viral.

Durante la adsorción se ha podido comprobar que algunos virus se unen a la superficie celular en receptores específicos. Los *picornavirus* lo hacen en un receptor cuya naturaleza química no ha podido determinarse.³ Choppin y Tamm, han demostrado que los *myxovirus* tienen afinidad por células que contienen ácido neuramínico en su membrana. La neuraminidasa que contiene el clámide viral interviene en la unión que es reversible.⁴ Los receptores de los *myxovirus* pueden ser destruidos por una enzima propia del *Vibrio colerae* (RDE). Aparentemente los *reovirus* tipos 1 y 2 se unen a la célula en receptores que Goldfield y Lerner piensan que están constituidos por grupos sulfhidrilo o disulfuro. El *reovirus* tipo 3 en cambio, no se adsorbe a la superficie, si las células son tratadas previamente con neuraminidasa.^{5, 6, 7, 8} Hartley y colaboradores, han demostrado que los *papovavirus* se unen a receptores que contienen ovomucina.⁹

La penetración de algunos virus puede estar regulada por procesos bioquímicos complejos. Los *myxovirus*, aunque se adsorben a su receptor, no penetran si la célula es tratada con adamantanamina.¹⁰ La adsorción de los *poxvirus*, ocurre también en receptores que tienen grupos sulfhidrilo.¹¹ En el caso de los *herpesvirus*, la evidencia indica que la unión se produce con la intervención de fuerzas electrostáticas.¹² Estudios realizados por Dales han demostrado que la penetración de los *poxvirus* es singular. El clámide es hidrolizado por fosfolipasas celulares, cuando la partícula está en las vesículas

fagocíticas y que ya en el citoplasma, la cápsula protéica es destruida por enzimas proteolíticas, probablemente virus inducidos.^{13, 14, 15}

La mayor parte de los virus ejercen su acción citocida porque son capaces de inhibir la biosíntesis de macromoléculas importantes para la célula huésped.

Los virus que más rápidamente ejercen su acción citopatogénica son los *picornavirus* que inmediatamente después de la infección inhiben las síntesis de RNA y proteínas. Promueven, sin embargo, la síntesis de histonas y destruyen los polisomas celulares hasta en un 90% del total.¹⁶ Los *reovirus* no influyen aparentemente en las síntesis de RNA y proteína celulares, en cambio deprimen la síntesis de DNA durante la fase exponencial de la producción viral.^{17, 18}

Los *myxovirus* del subgrupo I inhiben la síntesis de DNA y casi simultáneamente la síntesis de proteína. La inhibición de la síntesis de RNA es un proceso gradual que se hace más marcado hacia el final de la síntesis viral.^{19, 20, 21, 22} Los *adenovirus*, inhiben la síntesis de DNA celular cuando se inicia la réplica del ácido nucleico viral. Aparentemente el DNA celular es depolimerizado en nucleótidos que después se ordenan y polimerizan según el código del genoma viral. Cuando las proteínas virales se empiezan a sintetizar se inhibe la síntesis de proteínas celulares.²³ Wildy y colaboradores han demostrado que los *herpesvirus* sólo inhiben la síntesis de DNA celular.²⁴ Los *poxvirus*, después de inhibir la síntesis del mismo ácido nucleico ocasionan la

reducción de la síntesis de RNA, en las etapas finales de la síntesis viral, de acuerdo con los estudios de Hanafusa y Bickens.²⁵

En la biosíntesis de materiales virus inducidos se ha visto que los *picornavirus* inducen, todavía en la fase de eclipse, la síntesis de una RNA-polimerasa²⁶ y el RNA viral toma la conformación de doble banda resistente a la RNA-asa y con capacidad autorreplicante, de acuerdo con los informes de Baltimore y col.²⁷ Como estos virus destruyen los polisomas celulares, inducen la formación de otros más grandes y que contienen la información genética característica del virus.^{28, 29} Los *reovirus* que contienen RNA de doble banda³⁰ se comportan como los virus de DNA e inducen la formación de un RNA mensajero utilizando la RNA-polimerasa celular. Los estudios de Gomatos y col. demuestran que cuando se inicia la síntesis de RNA viral se producen ácido poliadenílico y ácido poliuridílico, homopolímeros que no se han encontrado en otros sistemas biológicos.³⁰ Los *arbovirus* también inducen la síntesis de RNA polimerasa, maduran en los sistemas membranosos de las células e incorporan a la partícula viral una clámide rica en fosfolípidos.

Los *myxovirus* del subgrupo I utilizan el DNA celular para lograr la síntesis de algunas proteínas por lo que estos virus son sensibles a la acteriomina D. Durante la fase de eclipse la diclororribofuranzilbenzimidazola inhibe la síntesis de nucleoproteínas y hemaglutininas características de estos virus. Los *myxovirus* del subgrupo II por el contrario, inducen a la síntesis

de su propia RNA-polimerasa y por lo mismo no son sensibles a la acteriomina D o a la diclororribofuranzilbenzimidazola.^{31, 32}

Diversos autores han encontrado que los *papovavirus* inducen la síntesis de arginasa, depleción de histonas e inhibición de la síntesis de DNA. El virus del papiloma de Shope, en determinadas condiciones parece ser un virus defectivo.^{33, 34, 35, 36}

Los procesos biosintéticos en los complejos adenovirus-célula son los que se han estudiado más a fondo. Estos virus inducen la síntesis de un RNA mensajero que controla las síntesis de un DNA polimerasa y timidinquinasa.^{37, 38} Es notable la cantidad de transcarbamilasa aspártica que se encuentra en estos complejos "virus-célula". Este hecho ocurre probablemente al liberarse el gene correspondiente del mecanismo de retroalimentación que lo controla. Si en este fenómeno participan los niveles de citidintrifosfato no está bien aclarado.^{39, 40} También se encuentra una depleción importante de pirimidinas por ser éstas incorporadas al DNA viral neoformado. Al sintetizarse una pare de la cápsula viral se produce un metabolito colateral con acción citotóxica que no está asociado a la partícula infectante.^{41, 42} Los *herpesvirus* inducen la síntesis de RNA mensajero para sintetizar timidinquinasa.^{43, 44} (*sensible a los nucleósidos halogenados*). En el momento de iniciarse la réplica viral, se deprime notablemente la actividad de la DNA nucleotidil-transferasa pero aumenta notablemente en la etapa de producción exponencial de virus.^{45, 46} Los *poxvirus*, de acuerdo con Green,

inician su actividad, con la inducción de RNA-mensajero que se asocia a los polisomas celulares para iniciar la síntesis de timidinquinasa.³⁵

Estudios citoquímicos en células cultivadas e inoculadas con diversos virus, han puesto de manifiesto que el virus del sarcoma de Rous induce la producción de gran cantidad de fosfatasa ácidas, y aumento de la actividad de las enzimas oxidativas al nivel de la mitocondria y se producen gran cantidad de mucoproteínas que al ser depositadas sobre la membrana celular son convertidas en mucopolisacáridos que ocasionan pérdida de la inhibición de contacto, característica de las células no infectadas. Estudios aún no publicados con células infectadas con virus de vaccinia, demuestran que hay depleción de proteínas en el nucleolo, que la actividad al nivel del ciclo de Krebs está aumentada y las células HeLa infectadas consumen todo el glucógeno que contienen, durante la fase exponencial. Es notable el aumento de fosfatasa ácidas en estos complejos "virus-célula".

REFERENCIAS

- Gomatos, P. J. y Tamm, I.: *The secondary structure of reovirus RNA*. Proc. Nat. Acad. Sc. 49: 707, 1963.
- Gomatos, P. J. y Tamm, I.: *Animal and plant viruses with double-helical RNA*. Proc. Nat. Acad. Sc. 50: 878, 1963.
- Holland, J. M., McLaren, L. C. y Syverton, J. T.: *The mammalian cell virus relationship. IV. Infection of naturally insusceptible cells with enterovirus ribonucleic acid*. J. Exper. Med. 110: 65, 1959.
- Chopin, P. W. y Tamm, I.: *Genetic variants of influenza virus which differ in reactivity with receptors and antibodies*. En: Cellular Biology of myxovirus infections, Editado por Wolstenholme, G.E.W. y Knight, J., Ciba Foundation Symposium. Boston, Little Brown & Co., pág. 218, 1964.
- Goldfield, M., Srihongse, S. y Fox, J. P.: *Hemagglutinins associated with certain human enteric viruses*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 96: 788, 1957.
- Lerner, A. M., Cherry, J. D. y Finland, M.: *Hemagglutination with reoviruses*. Virology, 19: 58, 1963.
- Gomatos, P. J. y Tamm, I.: *Reactive sites of reovirus type 3 and their interaction with receptor substances*. Virology, 17: 455, 1962.
- Eggers, N. J., Gomatos, P. J. y Tamm, I.: *Agglutination of bovine erythrocytes: a general characteristic of reovirus type 3*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 110: 79, 1962.
- Hartley, J. W., Rowe, W. P., Chantock, R. M. y Andrews, B. E.: *Studies of mouse polyoma virus infection. IV. Evidence for mucoprotein erythrocyte receptors in polyoma virus hemagglutination*. J. Exper. Med. 110: 81, 1959.
- Davies, W. L., Grunert, R. R., Haff, R. F., McGahen, J. W., Neomayer, E. M., Pavlishock, M. Watts, J. S., Wood, T. R., Hermann, E. C., y Hoffmann, C. E.: *Antiviral activity of 1-Adamantanamine (Amantadine)*. Science, 144: 862, 1964.
- Kaplan, G.: *Reactivation of vaccinia virus inactivated by mercuri*. Nature, 184: 1074, 1959.
- Nahmias, A. J., Hibrick, S. y Bernfeld, P.: *Effect of synthetic and biological polyanions on herpes simplex virus*. Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 115: 993, 1964.
- Dales, S. y Siminovitche, L.: *The development of vaccinia virus in Earle's L strain cells as examined by electron microscopy*. J. Biophys. & Biochem. Cytol. 10: 475, 1961.
- Dales, S.: *The uptake and development of vaccinia virus in strain L cells followed with labeled viral deoxyribonucleic acid*. J. Cell Biol., 1: 51, 1963.
- Dales, S.: *Replication of animal viruses as studied by electron microscopy*. Am. J. Med.: 38: 699, 1965.
- Penman, S., Scherrer, K., Becker, Y. y Darnell, J. E.: *Polyribosomes in normal and poliovirus-infected HeLa cells and their relationship to messenger-RNA*. Proc. Nat. Sc., 49: 654, 1963.
- Gomatos, P. J., Tamm, I., Dales, S. y Franklin, R. M.: *Reovirus type 3: physical characteristics and interaction with L cells*. Virology, 17: 441, 1962.

18. Gomatos, P. J. y Tamm, I.: *Macromolecular synthesis in reovirus-infected L cells*. Biochem et biophys. Acta 72: 651, 1963.
19. Wheelock, E. F., y Tamm, I.: *Biochemical basis for alterations in structure and function of HeLa cells infected with Newcastle disease virus*. J. Exper. Med., 114: 617, 1961.
20. Choppin, P. W.: *Multiplication of a myxovirus (SV5) with minimal cytopathic effects and without interference*. Virology, 23: 224, 1964.
21. Rustigian, R.: *A carrier state in HeLa cells with measles virus (Edmonston strain) apparently associated with non-infectious virus*. Virology, 16: 101, 1962.
22. Fernández, M. V., Wiktor, T. J. y Koprowski, N.: *Mechanism of the cytopathic effect of rabies virus in tissue culture*. Virology, 21: 128, 1963.
23. Bello, L. J. y Ginsberg, N. S.: *Effect to type 5 adenovirus infection on biosynthesis of host cell protein*. Fed. Proc., 23: 244, 1964.
24. Wildy, P., Smith, C., Newton, A. A. y Dendy, P.: *Quantitative cytological studies on HeLa cells infected with herpes virus*. Virology, 15: 486, 1961.
25. Hanafusa, T.: *Alteration of nucleic acid metabolism of host cells by active and inactivated forms of vaccinia virus*. Biken's J., 3: 313, 1960.
26. Baltimore, D. y Franklin, R. M.: *Preliminary data a virus-specific enzyme system responsible for the synthesis of viral R.N.A.* Biochem. & Biophys. Res. Commun., 9: 388, 1962.
27. Baltimore, D., Becker, Y. y Darnell, J. E.: *Virus-specific double stranded RNA in poliovirus-infected cells*. Science, 143: 1034, 1964.
28. Becker, Y., Penman, S. y Darnell, J. E.: *A cytoplasmic particulate involved in poliovirus synthesis*. Virology, 21: 274, 1963.
29. Penman, S., Becker, Y. y Darnell, J. E.: *A cytoplasmic structure involved in the synthesis and assembly of poliovirus components*. J. Molec. Biol., 8: 541, 1964.
30. Gomatos, P. J., Krug, R. M. y Tamm, I.: *Enzymic synthesis of RNA with reovirus RNA as template I Characteristics of the reaction catalyzed by the RNA polymerase from Escherichia coli*. J. Molec. Biol., 9: 193, 1964.
31. Barry, R. D.: *Effects of inhibitors of nucleic acid synthesis on the production of myxoviruses*. En: Cellular Biology of Myxovirus Infections, Editado por Wolstenholme G.E.W. y Knight Ciba Foundation Symposium, Boston, Little Brown & Co., pág. 51, 1964.
32. Granoff, A. y Kingsbury, D. W.: *Effect of actinomycin D on the replication of Newcastle disease and influenza viruses*. En: Cellular biology of myxovirus infections, Editado por Wolstenholme G.E.W. y Knight, J. Ciba Foundation Symposium, Boston, Little Brown & Co., p. 96, 1964.
33. Rogers, S. y Moore, M.: *Studies of the mechanism of action of the Shope rabbit papilloma virus I concerning the nature of the induction of arginase in the infected cells*. J. Exper. Med., 117: 521, 1963.
34. Shope, R. E.: *Are animal tumor viruses always virus-like?* J. Gen. Physiol. 45 (Supp): 143, 1962.
35. Dulbecco, R.: *Characteristics of virus-cell complexes*. Am. J. Med., 38: 669, 1965.
36. Koprowski, H.: *Virus-induced tumors and leukemias*. Am. J. Med. 3: 716, 1965.
37. Green, M.: *Studies on the biosynthesis of viral DNA*. Cold Spring Harbor Symposia Quant. Biol. 27: 219, 1962.
38. Green, M. Piña, M. y Chagoya, V.: *Biochemical studies on adenovirus multiplication. V. Enzymes of deoxyribonucleic acid synthesis in cells infected by adenovirus and vaccinia virus*. J. Biol. Chem. 239: 1188, 1964.
39. Consigli, R. A. y Ginsberg, N. S.: *Control of aspartate transcarbamylase activity in type 5 adenovirus-infected HeLa cells*. J. Bacteriol 87: 1027, 1964.
40. Consigli, R. A. y Ginsberg, N. S.: *Activity of aspartate transcarbamylase in uninfected and type 5 adenovirus-infected HeLa cells*. J. Bacteriol. 87: 1034, 1964.
41. Pereira, H. G.: *A protein factor responsible for the early cytopathic effect of adenoviruses*. Virology, 6: 601, 1958.
42. Rowe, W. P., Hartley, J. W., Roizman, B. y Levy, H. B.: *Characterization of a factor formed in the course of adenovirus infection of tissue cultures causing detachment of cells from glass*. J. Exper. Med., 108: 713, 1958.
43. Kit, S. y Dubbs, D. R.: *Acquisition of thymidine kinase activity by herpes simplex-infected mouse fibroblast cells*. Biochem. and Biophys. Res. Commun. 11: 55, 1963.
44. Dubbs, D. R. y Kit, S.: *Mutant strains*

- of herpes simplex deficient in thymidine kinase-inducing activity. *Virology*, 22: 493, 1964.
45. Keir, H. M. y Gold, E.: *Deoxyribonucleic acid nucleotidyl transferase and deoxyribonuclease from cultured cells infected with herpes simplex virus*. *Biochim. et biophys. acta*, 72: 263, 1963.
46. Russell, W. C., Gold, E., Keir, H. M., Omura, H., Watson, D. N. y Wildy, O.: *The growth of herpes simplex virus and its nucleic acid*. *Virology*, 22: 103, 1964.

II

BASES BIOQUÍMICAS¹DR. JOSÉ LAGUNA²

AL UTILIZAR los virus como instrumentos en el estudio de la síntesis de las proteínas y de los ácidos nucleicos, simultáneamente se ha logrado un mejor conocimiento de la propia naturaleza de los virus, de sus atributos moleculares y de su reactividad química. De esta manera, han corrido paralelas dos amplias vías de investigación abiertas: una, por los virólogos primeramente interesados en los problemas de la bioquímica de las proteínas y los ácidos nucleicos y, la otra, la explorada por los virólogos dedicados al estudio de las enfermedades infecciosas de los animales y de las plantas. Esta última área se ha ensanchado, recientemente, hasta comprender el asunto de los tumores y el cáncer. De manera peculiar, ambas vías de trabajo se han ido fun-

diendo insensiblemente y, en la actualidad, en algunos aspectos, como el que nos ocupa en esta ocasión de la quimioterapia de las virosis, ha desaparecido por completo cualquier línea divisoria entre ellas. Así, numerosos compuestos que se planearon para estudiar su actividad antitumoral, al interferir con caminos metabólicos específicos, han sido probados como agentes antivirales en organismos íntegros o en cultivos de tejidos, y en la actualidad se ensayan con buen éxito en el análisis de los procesos moleculares inherentes a la multiplicación de los virus.

La capacidad de la célula infectada con un virus para seguir trabajando en situaciones en las que muchos procesos normales son inhibidos, se ha tomado como prueba de que la infección viral despierta procesos enzimáticos nuevos, muchos de los cuales son insensibles a ciertos inhibidores químicos utilizados; es decir, el virus echa a andar nuevas reacciones metabólicas. Se

¹ Trabajo presentado en el Simposio sobre "Quimioterapia en las infecciones humanas por virus", en la sesión ordinaria del 14 de septiembre de 1966.

² Académico numerario. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

abre así la posibilidad de buscar inhibidores químicos apropiados que afecten este nuevo orden de cosas sin modificar el metabolismo normal de la célula: atacar, no al virus en sí mismo, sino a las modificaciones impuestas por el virus en la célula parasitada. Tenemos, por lo tanto, por primera vez, la base de una quimioterapia racional específica contra las infecciones por virus, en la que los compuestos diseñados se dirigirán contra los cambios provocados por los virus sin que lesionen, en el empeño, las células normales del huésped.

Hasta la fecha se conocen numerosos compuestos químicos que inhiben la multiplicación de los virus: la fleomicina, la mitomicina, la cromomicina A₃, la tetraciclina, el levorfanol, la puromicina, el ácido tenuazónico, la mikamicina, la estreptomisetina, etc. Por desgracia, la mayoría compromete la integridad de las células normales en grado variable. Su conocimiento, sin embargo, ha sido del mayor valor y conviene, para esta exposición, tomar algunos ejemplos en los que el mecanismo de acción y su posible importancia, *in vivo*, sirva de modelo para ilustrar las ideas expresadas líneas atrás.

Por ejemplo, la actinomicina D al unirse al ADN viral o celular bloquea la transcripción del ARN mensajero; los virus dependientes del ADN celular para su reproducción quedan, así inhibidos; tal hecho no sucede con los virus con ARN que no dependen del ADN para su formación.

Otro grupo de agentes de interés lo constituyen las pirimidinas halogenadas, entre las que destacan las bases

yodadas (5-yodouracilo) o bromadas (5-bromouracilo) o los nucleósidos halogenados como el 5-yodo uracilo desoxi-ribósido; todos ellos actúan primordialmente como antagonistas de la incorporación, en el ADN, de la timidina; algunos experimentadores han señalado su utilidad en el tratamiento de la queratitis del herpes simple. La trifluorotimidina *in vivo* ha sido muy activa en ciertas virosis como el herpes simple o en casos de vaccinia.

Los antagonistas competitivos de la síntesis de proteína (tanto celular como viral) inhiben, naturalmente, la multiplicación de los virus. La puromicina, análogo estructural del aminoácil ARN_i bloquea la incorporación de los aminoácidos a la cadena peptídica que va a formar la nueva proteína, quizás impidiendo la formación del propio ARN que lleva unido al aminoácido respectivo. De la misma manera, los aminoácidos sustituidos como la p-fluorofenilalanina son incorporados en las cadenas peptídicas y provocan, cuando están en gran número, la formación de proteínas "falsas" a más de ser posibles agentes mutagénicos.

Las tiosenicarbazonas suprimen la multiplicación viral en la fase de maduración y son efectivas en el tratamiento, en el laboratorio, de infecciones por poxvirus.

Por fin, la guanidina y el 2-alfa-hidroxi bencil bencimidazol, así como algunos de sus derivados inhiben *in vivo* la multiplicación de algunos picornavirus (polio, aftosa, etc), sin que se afecten, sensiblemente, las células del huésped. Actúan en la última mitad del período de latencia impidiendo la

formación de la polimerasa del ARN activa y funcional que forme, precisamente el ARN del virus. De acuerdo con Lwoff, el defecto parece residir en la organización de las cadenas polipeptídicas que no llegan a integrar la molécula proteica funcionalmente activa.

Hemos revisado, pues, en forma breve, algunos ejemplos de acción de inhibidores que modifican la duplicación

del ADN, o la formación del ARN o por fin, de la proteína que es producto de la función de aquéllos; podríamos haber multiplicado los casos. Creo, sin embargo, que con ellos basta para poder asentar lo lógico de suponer que existan otros inhibidores específicos de virus que sólo esperan, y quizás, a muy corto plazo, que sean descubiertos o sintetizados.

III

EXPERIENCIAS CON DERIVADOS DE LA CLOROGUANIDINA¹

DR. JULIO DE MUCHA MACÍAS²

ENTRE LOS numerosos compuestos químicos que se han investigado como inhibidores de la reproducción viral, sólo unos cuantos impiden la réplica de ciertos virus patógenos del hombre. El conocimiento de este efecto se ha obtenido principalmente mediante múltiples experimentos "in vitro", en cultivo de tejidos y en animales de experimentación. En cambio, la información disponible acerca de la acción farmacológica, preventiva y terapéutica de las drogas antivirales en el hombre es proporcionalmente menor.

El objeto de esta comunicación, es

presentar las experiencias logradas en el Instituto Nacional de Virología de la S.S.A., relativas al efecto preventivo y terapéutico de la 1.1 (3-oxapentametileno) biguanida en infecciones humanas causadas por los virus de influenza y herpes.

La citada droga es una cloroguanidina cuya estructura química es la señalada en la figura 1. En Suecia, donde inicialmente se encontró,¹ fue designada con el nombre de N,N'-anhidrobis (B-hidroxietil) biguanida-HCL o ABOB. Es una sustancia blanca, cristalina, inodora, ligeramente salada y muy soluble en el agua a 25°C. Su punto de fusión es de 203-204°C. En animales de laboratorio esta droga no modifica la presión sanguínea ni las funciones hepáticas. Tampoco altera las cifras de

¹ Trabajo presentado en el Simposio sobre "Quimioterapia en las infecciones humanas por virus", en la sesión ordinaria del 14 de septiembre de 1966.

² Instituto Nacional de Virología, Secretaría de Salubridad y Asistencia.

TABLA 1
INFECCION POR VIRUS B DE INFLUENZA EN 300 NIÑOS DISTRIBUIDOS
SEGUN DROGA O PLACEBO

Internado Nacional Infantil de la Ciudad de México, D. F.

1960

Número de dosis	1.1 (3-oxopentametileno) biguanida				Placebo			Total	
	Núm.	Infectados	%	Núm.	Infectados	%	Núm.	Infectados	%
Una	75	29	38.7	75	30	40.0	150	59	39.3
Tres	75	35	46.7	75	29	38.7	150	64	42.7
Total	150	64	42.7	150	59	39.3	300	123	41.0

Se consideran infectados a los niños cuyos sueros sanguíneos, después del brote, dieron un título de 1:32 en adelante para el virus B de influenza en la prueba IH.
(Tomado de Campillo S., C. y colaboradores.)²

TABLA 2

CASOS CLINICOS DE INFLUENZA B EN 300 NIÑOS DISTRIBUIDOS
SEGUN DROGA O PLACEBO

Internado Nacional Infantil de la Ciudad de México, D. F.

1960

Número de dosis	I.I.(3-oxapentametileno) biguanida			Placebo			Total		
	Núm.	C.C.	%	Núm.	C.C.	%	Núm.	C.C.	%
Una	75	6	8.0	75	9	12.0	150	15	10.0
Tres	75	9	12.0	75	11	14.7	150	20	13.3
Total	150	15	10.0	150	20	13.3	300	35	11.7

(Tomado de Campillo S., C. y colaboradores).²

nica de la droga se tomó como criterio la supresión o atenuación del dolor y de otros trastornos sensitivos, así como la involución de las lesiones.

Los resultados fueron clasificados en 3 categorías: buenos, regulares y nulos o inaparentes, encontrándose 66%, 20% y 12%, respectivamente. El ABOB demostró una potente acción analgésica y pareció ejercer un efecto favorable sobre el curso de la enfermedad. En la mayoría de los pacientes el tratamiento no fue capaz de impedir las recidivas; sin embargo, en algunos enfermos el efecto ha sido bastante prolongado, como se observó en una mujer de 25 años de edad, a quien por haber presentado un 5o. brote de herpes simple genital se le administró el ABOB con buenos resultados. Esta persona ha tenido un período de remisión de 6 meses, que es mucho más largo que los anteriores (Tabla 3).

Mecanismo de acción de las cloroguanidinas. El efecto antiviral de las cloroguanidinas fue descrito por Rightsel y col. en 1961;⁴ estos autores demostraron que las sales solubles de las cloroguanidinas tenían una acción antiviral sobre los poliovirus y otros enterovirus. Así, el efecto citopático de los virus de poliomielitis en cultivos celulares era inhibido por estas drogas. Esos mismos autores encontraron que la droga no actuaba en infecciones celulares por el grupo de los mixovirus al cual pertenece la influenza y en las causadas por los virus herpéticos humanos.

Posteriormente varios autores⁵⁻⁷ han señalado que el clorhidrato de guanidina actúa en células infectadas con poliovirus, inhibiendo la enzima ácido

ribonucleico (ARN)-polimerasa que habitualmente cataliza la síntesis de nuevo ARN viral, por lo que cesa la formación de partículas infectantes.

Por lo mencionado, parece existir una discrepancia entre los resultados obtenidos en las experiencias llevadas al cabo a nivel celular y las que se presentan en este trabajo, que son de carácter clínico. Es decir, de acuerdo con las primeras, las cloroguanidinas inhiben la reproducción de virus perteneciente al grupo de los *picornavirus* que se caracterizan por tener ARN y no se ha demostrado que tengan efecto inhibitorio sobre el virus de influenza, aunque éste también tiene en su constitución ARN. Asimismo, se ha visto a nivel celular la ineficacia del producto en infecciones herpéticas causadas experimentalmente.

De los resultados que en este trabajo se presentan, puede concluirse que las cloroguanidinas, aunque no evitan la infección por virus de influenza, sí parecen ejercer cierto efecto atenuante sobre las manifestaciones clínicas. Esta impresión encuentra apoyo en los estudios de Sjöberg,⁸ quien obtuvo efectos supresivos frente a un brote epidémico de influenza asiática. Por lo que toca a la acción terapéutica de las cloroguanidinas en las infecciones herpéticas humanas, los estudios realizados en el Instituto Nacional de Virología indican que el ABOB tiene una potente acción analgésica que puede considerarse superior a otros recursos locales y generales que se han empleado en estas infecciones con el mismo propósito. En este sentido, Wilkinson⁹ parece haber observado resultados similares en 19

Tabla 3

TRATAMIENTO CON 1.1.(3-oxapentametileno) biguanida (ABOB) EN 24 CASOS DE INFECCIONES HERPÉTICAS HUMANAS

No.	Edad en años	Sexo	Herpes Simple	Herpes Zóster	Localización del herpes	Aislamiento del virus	Brote primario o recidiva	Días de evolución antes del Tratam.	Duración del tratamiento	Evaluación con resultado
1	1	M		x	Intercostal	—	BP	2	8	Bueno
2	5	F	x		Labial	—	BP	30	10	Bueno
3	11	F	x		Corneal	+	BP	32	8	Regular
4	18	M		x	Cervical	*	BP	1	8	Regular
5	19	M	x		Labial	*	BP	4	8	Bueno
6	21	M	x		Corneal	+	3°	55	30	Bueno
7	24	F	x		Labial	*	BP	8	8	Bueno
8	25	F	x		Genital	—	5°	1	8	Bueno
9	27	F	x	x	Cubital	—	BP	3	8	Bueno
10	27	M		x	Muslo	—	BP	2	8	Bueno
11	32	M	x		Corneal	+	BP	10	15	Regular
12	34	M	x		Corneal	+	BP	3	15	Regular
13	36	F		x	Cervical	—	BP	25	8	Nulo
14	37	M		x	Intercostal	—	2°	2	8	Bueno
15	38	M	x		Corneal	—	BP	5	8	Bueno
16	39	M	x		Corneal	+	BP	23	8	Bueno
17	40	M		x	Intercostal	*	3°	1	8	Bueno
18	43	M		x	Muslo	—	BP	12	8	Bueno
19	54	M	x		Corneal	—	4°	11	37	Nulo
20	55	F	x		Genital	+	3°	15	30	Bueno
21	55	M		x	Intercostal	—	BP	3	8	Bueno
22	59	M	x		Corneal	—	BP	2	8	Regular
23	60	M		x	Intercostal	—	4°	2	8	Nulo
24	69	F		x	Intercostal	+	BP	19	8	Bueno

— Negativo

+ Positivo

* No se hizo

(Tomado de De Mucha Macías y col.)³

casos de herpes zóster, que lo llevaron a concluir que el tratamiento con esta droga es efectivo si se administra en las etapas iniciales de la enfermedad.

Habrà que esperar en lo futuro mayor informaci3n en materia de bioquímica de la réplica viral, para lograr un mejor conocimiento acerca del modo de acci3n de drogas sobre las infecciones virales a nivel celular. Quizà entonces se explicaràn las discrepancias entre los resultados obtenidos a ese nivel y los que se encuentran en experiencias clínicas como las aquí presentadas.

REFERENCIAS

1. Melander, B.: *N,N'-anhydrobis-(B-hydroxyethyl) biguanida-HCl (ABOB); Chemical and Pharmacodynamic Properties*, Research Report No. 83, A/B DABI, Research Department, Stockholm, 1959.
2. Campillo, C., Bravo, M. de Mucha, J. Veràstegui, R. y Zamudio, R.: *Evaluaci3n de la acci3n preventiva de la 1.1 (3-oxapentametileno) biguanida, en un brote de influenza B*. Rev. Inst. Salubr. Enferm. Trop., 20: 8, 1960.
3. De Mucha Macías, J., Buentello, L. y Campillo, C.: *Efecto de la 1.1 (3-oxapentametileno) biguanida (ABOB) en infecciones hepáticas humanas*. Rev. Invest. Salud Públ. XXVI, 2: 155, 1966.
4. Rightsel, W. A., Dice, J. R., McAlpine, R. J., Timm, E. A., McLean, I. W., Jr., Dixon, G. J., y Schabel, F. M., Jr.: *Antiviral effect of guanidine*. Science 134: 558, 1961.
5. Crowther, D. y Melnick, J. L.: *Studies of the inhibitory action of guanidine on poliovirus multiplication in cell cultures*. Virology, 15: 65, 1961.
6. Baltimore, D., Eggers, H. J., Franklin, R. M., y Tamm, I.: *Poliovirus induced RNA polymerase and the effects of virus specific inhibitors on its production*. Proc. Nat. Acad. Sci., 49: 843, 1963.
7. Holland, J. J.: *Depression of host-controlled RNA synthesis in human cells during poliovirus infection*. Proc. Nat. Acad. Sci., 49: 23, 1963.
8. Sjöberg, B.: *Experiments on prophylaxis and suppression of epidemic influenza with N,N'-anhydrobis-(B-hydroxyethyl) biguanide-HCl (ABOB)*. Antibiot. Med. Clin. Ther., 7: 97, 1960.
9. Wilkinson, J.: *Abityl guanide (ABOB) in treating herpes zoster*. North Carolina Med. J., 23: 357, 1962.

IV

OTRAS DROGAS ANTIVIRALES E INTERFERON¹

DR. CARLOS CAMPILLO SÁINZ²

No sólo las biguanidas y los nucleósidos halogenados son capaces de inhibir la síntesis viral. Los compuestos

que constituyen el grupo de las tiosemicarbazonas ocupan también lugar destacado en el capítulo incipiente de la terapéutica antiviral.

El compuesto Isatin-B-tiosemicarbazona (ITSC) conocido también con el nombre de Marborán, tiene acci3n principalmente sobre los poxvirus que es un grupo de virus caracterizado por

¹ Trabajo presentado en el Simposio sobre "Quimioterapia en las infecciones humanas por virus", en la sesi3n ordinaria del 14 de septiembre de 1966.

² Académico numerario, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

producir lesiones vesiculares en la piel y las mucosas.

Los trabajos que se han emprendido para conocer el mecanismo de acción del Marborán,¹ han demostrado que esta sustancia en concentraciones adecuadas, inhibe la réplica viral; pero no evita el efecto citopático de las células infectadas "in vitro".

El efecto citocida del virus, en estas circunstancias, pone de manifiesto que el ciclo de réplica viral, se lleva a cabo parcialmente y que el Marborán actúa sobre las etapas de ensamble y maduración del virus. Esta interpretación encuentra apoyo en el hecho de que las células infectadas y tratadas con la droga incorporan timidina- H_3 y también, porque varios de los antígenos propios del virus pueden encontrarse acumulados en el citoplasma de la célula infectada.

El poxvirus de más importancia en patología humana, es el virus de la viruela. Aunque la enfermedad ha sido erradicada en diversos países, incluyendo el nuestro, en otros constituye todavía un grave problema que, por otra parte, entraña la amenaza de extenderse a los primeros. Después de la exposición al contagio, la inmunización activa por medio de la vacuna no siempre es eficaz y la gamma globulina inmune tiene utilidad muy limitada.

La primera evaluación clínica del Marborán se hizo recientemente en la India, durante algunas de las frecuentes y mortíferas epidemias de viruela que azotan a ese país.

En las pruebas efectuadas, los contactos que, por lo demás, fueron vacunados, se dividieron en dos grupos com-

parables de más de 1,000 personas cada uno. Entre los sujetos tratados con Marborán a distintas dosificaciones, sólo se presentaron tres casos benignos de viruela. En cambio, en el otro grupo ocurrieron 78 casos, con 19 defunciones. Estos resultados ponen de manifiesto la eficacia profiláctica de la droga. El efecto curativo es inferior y sólo puede obtenerse a condición de que el tratamiento se instituya muy tempranamente, ya que al tercer día de aparecidas las lesiones, no se logra modificar el curso de la enfermedad.²

Respecto a los efectos indeseables que provoca la droga, sólo se ha informado de la ocurrencia de vómito en aproximadamente 16% de los casos, síntoma que puede aparecer de 6 a 8 horas después de iniciado el tratamiento.

Otra droga antiviral que ha atraído la atención, es la 1-Adamantanamina, que es un inhibidor de la síntesis de algunos mixovirus. Este compuesto actúa prolongando o bloqueando la penetración del virus en las células; pero no tiene ningún efecto en la fase preliminar de adsorción viral. Es aparentemente activo contra los virus A y C de la influenza y el virus sendal de la para-influenza; todos ellos son inhibidos por la droga en cultivos celulares, embriones de pollo y en ratones. En estos últimos, se ha visto que hay cierta protección cuando el tratamiento se inicia hasta 48 horas después de la inoculación experimental.³ En seres humanos, se ha demostrado su acción profiláctica que desafortunadamente coincide con la depresión de la respuesta inmunológica.⁴ Son necesarios nuevos estudios para evaluar esta sustancia antiviral en patología humana.

En los últimos años, ha despertado gran interés el descubrimiento de Isaacs. En 1957, este autor logró aislar y purificar una proteína de bajo peso molecular, a la que llamó interferón. No es fácil decidir si la recuperación de una enfermedad causada por virus —sobre todo si se trata de primoinfección— se debe al desarrollo de anticuerpos específicos o es el resultado de mecanismos de resistencia celular. El interferón representa el único factor, por ahora conocido, responsable de esa resistencia celular. Es elaborado como respuesta de las células al virus invasor, y tiene el efecto de proteger contra ese mismo virus y contra otro cualquiera, a las células susceptibles que no han sido infectadas. El interferón tiene un punto isoelectrónico próximo a la neutralidad, es específico dentro de amplias variaciones de pH, relativamente resistente al calor y poco antigénico no obstante que es una proteína. El interferón procedente de células de un determinado origen, sólo actúa sobre las que derivan de un organismo de la misma especie. En contraposición con esta especificidad de especie, el interferón actúa, cualquiera que sea su procedencia, a diferencia de los anticuerpos, sobre virus de la más variada constitución antigénica.

El interferón se produce bajo el control genético de la propia célula en cuyo interior tiene el efecto de inhibir la síntesis del ácido nucleico viral, probablemente induciendo la formación de una nucleasa inestable que degrada, tanto el ácido nucleico del virus, como el ARN neoformado por la célula. Este mecanismo de acción explica el hecho

de que el interferón sea efectivo sobre distintos virus y también su falta de actividad directa sobre el virus. Aunque el interferón se considera desprovisto de toxicidad, esto puede no ser cierto en todos los casos, ya que puede ser la causa de algunos fenómenos tóxicos que se observan en ciertas infecciones por virus.

También cabe suponer que la inhibición de la síntesis del ARN mensajero, repercute sobre ciertos ciclos energéticos e interfiera en la síntesis de proteínas. Apoyan este punto de vista, la disminución de ARN acumulado en las células tratadas, algunos cambios morfológicos que éstas exhiben y la depresión o ausencia de mitosis celulares.

La información de que se dispone en la actualidad indica que la substancia que nos ocupa, más que un agente terapéutico, es un recurso profiláctico contra las infecciones virales. Sin embargo, su aplicación tropieza en la práctica con algunas dificultades, que son:

1o. Debe utilizarse antes de que tenga lugar la invasión del organismo por el virus, puesto que una vez iniciada la réplica viral, su efecto es casi nulo. 2o. Para uso humano no hay una fuente de producción de interferón que esté exenta de riesgos, y 3o. La dificultad de establecer una posología adecuada en la práctica, dada su alta velocidad de excreción y la ignorancia que tenemos sobre el proceso de degradación que sufre bajo la acción de las proteasas sanguíneas.

Por otra parte, si se toma en cuenta que una persona de talla media tiene aproximadamente 10^{13} células, la dosis

necesaria sería, aproximadamente de 45 mg., calculada sobre las observaciones hechas en cultivos de tejidos infectados con virus de la encefalitis equina del este.

Lo anterior significa que se necesitaría alrededor de 20 litros de medio de cultivo para obtener una sola dosis humana. En consecuencia, la única forma práctica de utilizar el interferón, es inyectar en un organismo una sustancia que sea capaz de estimular su producción; entre tales sustancias figuran el estatolón, algunos dextranulfatos y los ácidos nucleicos de la *E. coli*. Es probable que los requerimientos para inducir la producción de interferón se llenen con el uso de moléculas polia-

nónicas, las cuales se combinarían o eliminarían la histona represora del ADN que controla la síntesis de esa sustancia.

REFERENCIAS

1. Bach, M. K. y W. E. Magee: *Biochemical effects of isatin B-Thiosemicarbazone on development of vaccinia virus*. Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. 110: 565, 1962.
2. Bauer, D. J., K. R., Dumbell, P. Fox-Hulme y P. W. Sadler: *The Chemotherapy of variola major infection*. Bull. World Health Org. 26: 727, 1962.
3. Davies, W. L., R. R. Grunert y C. E. Hoffmann: *Virus and antibody studies in influenza-infected mice treated with l-adamantanamina HCl (Amantadine HCl)*. Bacteriological. Proc. 64: 137, 1964.
4. Wendel, H. A.: *Clinical and Serological effects in Influenza of l-adamantanamina HCl. A double blind Study*. Federation Proc. 23: 387, 1964.

V

CONCLUSIONES¹

DR. CARLOS CAMPILLO SÁINZ²

ALGUNAS IDEAS fundamentales sintetizan lo expresado en este Simposium. Puede afirmarse, en primer término, que la quimioterapia antiviral ha entrado en los últimos años en una ruta científica. El conocimiento cada vez más exacto de las distintas etapas del ciclo reproductor de los virus interpretado a la luz de los procesos quí-

micos involucrados, permite realizar búsquedas intencionadas de agentes quimioterapéuticos cuyo mecanismo de acción puede preverse de antemano. Si bien esto significa que se ha dejado atrás lo que fuera investigación ciega, es necesario admitir que todavía en la actualidad no es posible suponer qué compuestos serán definitivamente utilizables en patología humana.

Se destacó la importancia de evaluar dichos compuestos, tanto en su acción terapéutica como por su efecto tóxico, en distintos sistemas biológicos; habiéndose admitido que los resultados que

¹ Presentadas en el Simposio sobre "Quimioterapia en las infecciones humanas por virus" en la sesión ordinaria del 14 de septiembre de 1966.

² Académico numerario. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.

ellos proporcionan, no siempre son correlativos. Se precisó, además, que ambos efectos deben determinarse justamente en el ser humano bajo condiciones de seguridad y con apego al mayor rigor científico.

Entre todas las sustancias que han mostrado una actividad contra los virus, sólo tres grupos han encontrado aplicación en la práctica: las pirimidinas halogenadas, las guanidinas, y las tiosemicarbazonas. Es interesante recalcar que las primeras actúan solamente sobre los virus que tienen ADN, y de preferencia en aplicaciones tópicas.

En cuanto a las biguanidas, puede afirmarse que su utilidad es relativamente pobre en la profilaxis de la influenza humana y su acción supresiva discutible. Su mecanismo de acción es todavía oscuro en infecciones producidas por virus que contienen ADN como son los herpesvirus; infecciones sobre las que parecen ejercer cierto beneficio. Dentro del grupo de las tiosemicarbazonas, el Marborán ha demostrado su valor profiláctico en la viruela humana.

A raíz del descubrimiento del interferón, surgieron grandes esperanzas sobre su posible utilización como agente terapéutico. Desafortunadamente ese optimismo inicial se ha desvanecido con el tiempo. Por el momento no parece fácil aplicar el interferón de manera directa ni con fines profilácticos, lo que se antoja más prometedor, ni menos aún como agente curativo.

Por otra parte, es indiscutible que el interferón representa un mecanismo general de defensa puesto en juego por las células frente a la introducción, principalmente, de ácidos nucleicos ex-

traños. De hecho, en condiciones naturales, juega papel importante en los mecanismos defensivos de que un organismo dispone para combatir las enfermedades por virus. Podría especularse sobre la importancia que tienen las infecciones producidas por virus de baja patogenicidad desde el punto de vista del papel protector que representan frente a los ataques de los virus patógenos. Siguiendo esta misma línea de pensamiento, existe la posibilidad de estimular artificialmente, como ya se dijo, la producción de interferón mediante sustancias inofensivas.

Finalmente, aunque se han encontrado nuevos caminos, la quimioterapia antiviral se reduce en la actualidad a unos cuantos compuestos. Tal vez no esté lejano el día en que se descubran sustancias antivirales capaces de satisfacer o de acercarse al menos, a los requisitos de una droga ideal. Estos últimos conviene tenerlos presentes como un objetivo que sirva de constante estímulo.

1. La droga antiviral ideal debe prevenir la infección, interrumpir la biosíntesis del virus o eliminar éste de la célula; debe además permitir que los mecanismos defensivos del huésped, se ejerzan libremente.

2. La sustancia debe ser de tal modo selectiva, que ocasione, a lo sumo, daños intrascendentes sobre el huésped y no debe ser retenida por las células o incorporada en su interior en forma tal que represente un riesgo continuo.

3. El compuesto tendrá amplio espectro y no dará lugar al desarrollo de resistencias.