# Quimioterapia del virus de la rabia en cultivos de tejidos

PABLO HERNÁNDEZ JÁUREGUI-ÁLVAREZ *

*Se analizó el efecto* in vitro *del isoprinosine, un compuesto antiviral, en células 13SCl infectadas con cepas de virus rábico adaptadas a cultivos celulares: las cepas ERA y V319. El isoprinosine, a concentraciones de hasta 100 µg/ml en el medio de cultivo, no produce efecto de toxicidad a las células y sí efecto mitógeno, probablemente mediado por la activación del ácido ribonucleico. En las células infectadas con las cepas de virus rábico y por el efecto del isoprinosine, disminuyeron el título de la multiplicación viral, el número de células inmunofluorescentes y las estructuras involucradas en la multiplicación viral. El mecanismo del efecto antiviral está probablemente mediado por modificación en la conformación y función ribosomal.*

CLAVES: Virus rábico, cultivos celulares, isoprinosine.

Recibido: 28 de enero de 1982.
Aceptado: 1º de marzo de 1982.

Presentado en sesión ordinaria de la Academia Nacional de Medicina, el 9 de septiembre de 1981.

* Académico numerario. Sección de Patología Comparada. División de Patología. Unidad de Investigación Biomédica. Centro Médico Nacional. Instituto Mexicano del Seguro Social.

Sólo con la nueva tecnología científica ha podido ser mejorado el sistema terapéutico establecido por Louis Pasteur, cuando logró la protección inmunológica en individuos expuestos al virus de la rabia. El conocimiento del uso de agentes terapéuticos para el tratamiento de las enfermedades infecciosas tuvo gran auge con las aportaciones de Ehrlich, plasmadas en la quimioterapia de la sífilis con el Salvarsan y con el descubrimiento de la acción del *Penicillium* sobre las bacterias, logra-

do por Fleming. Desde entonces, la industrialización e investigación de nuevos productos para el control de las enfermedades infecciosas ha tenido gran desarrollo, de tal suerte que hoy existe la oportunidad de ensayar nuevos productos en enfermedades no totalmente controladas desde el punto de vista quimioterápico, como son las infecciones virales.

A la fecha se cuenta con un limitado número de compuestos con actividad antiviral, cuyos mecanismos de acción difieren entre sí. Algunos de ellos, como la amantadina, tienen actividad sobre la absorción viral, la penetración del virus a la célula, la eliminación de su cubierta o la salida de los virus; otros inhiben ciertos sistemas enzimáticos, la síntesis de ácidos nucleicos o la de proteínas, como es el caso del citarabin, del vidarabin o de la metisazona. Otros compuestos con actividad antiviral poseen mecanismos que derivan de su interacción con el aparato inmunocompetente y por ello reciben el nombre de inmunomoduladores. De los productos biológicos con actividad antiviral sobresalen los obtenidos del tejido linfoide, como las linfocinas, las monocinas, el interferón y las hormonas tímicas: timosina, timopoyetina y factor tímico sérico.

Existen otros compuestos de síntesis que se caracterizan por modular y amplificar la respuesta inmune, como los polinucleótidos, el levamisol, el isoprinosine y el linesterol.

El isoprinosine es un compuesto constituido por inosina y 2-hidroxi-propil-dimetilamonio, 4-acetilamino-benzoato,[1] con actividad en enfermedades virales del hombre, como son la influenza[2] y las infecciones herpéticas.[3] Esta substancia produce su efecto, estimulando los mecanismos de la inmunidad celular e inhibiendo la multiplicación de virus, ácido ribonucleico y ácido desoxirribonucleico.

El isoprinosine tiene dos propiedades antivirales: una, la de estimular el sistema inmune, facilitando la proliferación de linfocitos T e incrementando la capacidad de fagocitosis por las células mononucleares;[4,5] y otra, la de inhibir la multiplicación viral. Los mecanismos de efecto antiviral que se proponen para esta droga fueron planteados por Gordon y Brown,[6] quienes sugieren que el efecto antiviral esté mediado por la modificación de la conformación y función ribosomal. Se especula que el isoprinosine induce el rechazo del ácido ribonucleico mensajero viral.

El mecanismo de acción sugerido por Gordon y Brown está basado en mediciones de la fracción ribosomal en el hígado y en el cerebro de individuos tratados con isoprinosine. Se demostró que aumenta el contenido de ácido ribonucleico, del cual aparece un pico nuevo en la actividad específica, que hay resistencia a la ribonucleasa exógerina y que el ácido ribonucleico postmitocondrial extraído es sintetizado con mayor rapidez. Asimismo se demostró que la droga aumenta, en las proteínas precursoras, los grados de incorporación de ácido ribonucleico en los polirribosomas. También aumenta la cantidad relativa del ácido orótico (marcador del ácido ribonucleico mensajero) en los ribosomas.[6,7]

En el presente estudio se informa sobre los resultados del efecto antiviral del isoprinosine en cultivos celulares infectados con el virus de la rabia.

## Métodos

### *Las células*

Se utilizó la clona celular 13S-Cl que proviene de una línea celular de riñón de hamster recién nacido.[8] El monoestrato celular fue desarrollado hasta 80 por ciento de confluencia en cajas de Petri. Los cultivos se mantuvieron a 36°C en una atmósfera de 4 por ciento de $CO_2$ con flujo continuo de aire; el medio de cultivo utilizado fue el BHK-21 de *Gibco*.

El título viral del sobrenadante de los cultivos celulares se obtuvo por medio de la prueba de placa en suspensiones de agarosa y los resultados fueron evaluados estadísticamente,[9] de acuerdo con la prueba de U de Mann-Whitney.[10]

Para la evaluación de la inmunofluorescencia se contó el número de células positivas a la inmunofluorescencia con un objetivo seco fuerte (40 X), por dos personas que desconocían el origen de las muestras. También estos resultados se evaluaron por la prueba de U.

Los estudios de microscopía electrónica requirieron fijación *in situ* de las células en glutaraldehído al 2.5 por ciento en amortiguador de cacodilatos 0.1 M a pH 7.4. La inclusión del material se llevó al cabo en el mismo sitio de crecimiento de las células, utilizando la técnica de Brinkley.[11]

El haber usado bajas multiplicidades del virus rábico, así como haber incluido y fijado *in situ*, permitieron en este experimento la adecuada evaluación del ciclo de reproducción del virus rábico, evitándose la formación de ciclos aberrantes y las modificaciones en las relaciones virus-célula.

### *Efecto del isoprinosine sobre las células*

Por estudios previos se conocen las concentraciones de isoprinosine con las que se obtiene inhibición viral; los límites de concentración varían de 0.005 a 1.0 µg/ml y 10 a 150 µg/ml.[1] También es conocido el hecho de que las células en cultivo muestran sensibilidad a cualquier substancia que se administre, aun en cantidades menores de 50 a 100 µg/ml.

Con base en esta información se analizó el efecto del isoprinosine a concentraciones que variaron de 0.1 a 100 µg/ml. El estudio consistió en la cuantiación de las células en cultivo después de 24, 48 y 72 horas de exposición al compuesto, en un contador electrónico de partículas. Simultáneamente se realizaron pruebas de viabilidad celular por medio de la técnica de exclusión al azul de tripán y también se contaron las células en mitosis. Todas estas pruebas fueron sujetas al análisis estadístico de regresión lineal, de paralelismo y prueba t para rectas. El nivel de significancia que

se utilizó en estos experimentos fue de 0.01 con 99 por ciento de confianza estadística.

Al mismo tiempo se fijaron células *in situ* cultivadas con isoprinosine a concentración de 100 µg/ml, así como células cultivadas sólo con el medio, para estudios de microscopía electrónica de transmisión.

*Ciclo del virus rábico en cultivos celulares y efecto del isoprinosine sobre el virus rábico*

Se infectaron cultivos celulares con dos variedades de virus rábico adaptados a cultivos celulares: la cepa ERA y la cepa V319. Los cultivos se infectaron con una dilución viral de 1:5 con una multiplicidad de una a dos unidades formadoras de placa de un concentrado viral que contenía $10^{7.8}$ y $10^{8.0}$ unidades formadoras de placas por mililitro respectivamente.

Se incluyeron controles de cultivos sin inocular, cultivos controles que además del medio nutritivo recibieron isoprinosine y cultivos infectados a los que no se agregó la droga. La evaluación del experimento consistió en cuantiar la cantidad de células positivas a la inmunofluorescencia específica de rabia, la multiplicidad del virus en el medio sobrenadante y las estructuras involucradas en la multiplicación viral intracelular.

**Resultados**

## EFECTO DEL ISOPRINOSINE SOBRE LAS CELULAS

*Características de los cultivos de tejidos*

El cultivo control crece en forma logarítmica, de manera que en 36 horas se duplica el número de células. Con las dosis de 0.1 y 1 µg/ml de isoprinosine, durante las primeras 24 horas los cultivos tratados se desarrollan a velocidad similar que los testigos y posteriormente crecen en forma logarítmica, más rápidamente que las del cultivo control. Con las dosis de 10 y 100 µg/ml del compuesto se nota incremento en el crecimiento de la población desde las primeras horas; la diferencia encontrada fue estadísticamente significativa al nivel de $P < 0.01$ (fig. 1).

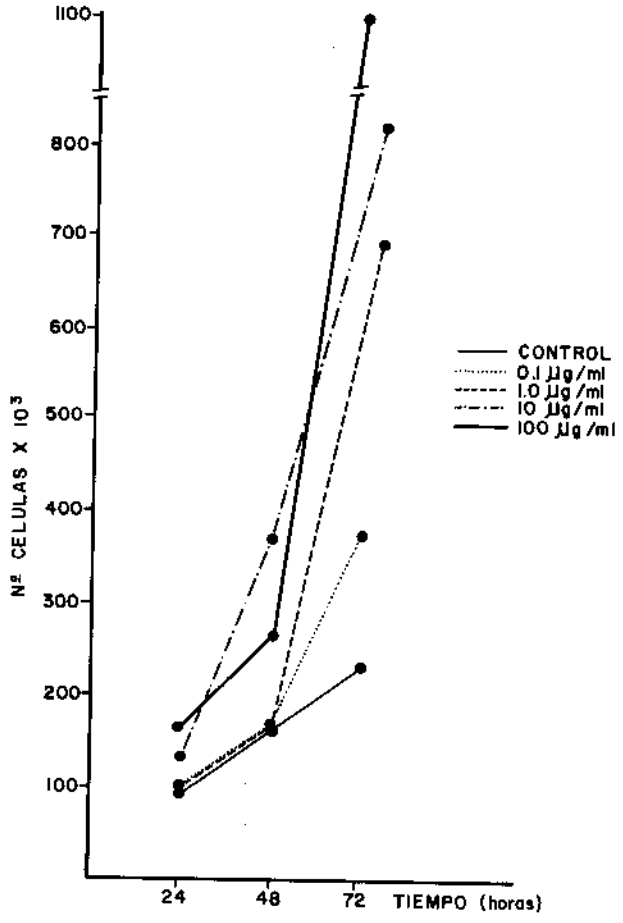



**Fig. 1. Representación gráfica de la multiplicación de las células 13SCl bajo el efecto del isoprinosine. Nótese que después de 48 horas de incubación se incrementa el número de células.**

*Estudio ultraestructural*

*Células con medio de cultivo sin isoprinosine.* En el citoplasma, se encontró un numeroso grupo de polirribosomas ubicados muy cerca unos de otros. En ciertos sitios los ribosomas se ven interrumpidos en su organización por vesículas, mitocondrias o cisternas de retículo endoplásmico rugoso; estos organelos se localizan en la periferia de la zona donde los polirribosomas son compactos (fig. 2). El núcleo es ovoide; la cromatina nuclear está dispuesta en grupos uniformemente distribuidos y la eucromatina se asocia a la membrana nuclear formando áreas de mayor densidad. Pueden demostrarse uno o dos nucléolos, dependiendo del nivel del corte (fig. 3). En las áreas menos densas los ribosomas están más separados, formándose espacios claros que frecuentemente son ocupados por microfilamentos y microtúbulos (fig. 4). Las mitocondrias adoptan forma alargada, tienen matriz densa y presentan crestas transversales finas; ocasionalmente se demuestran vesículas de degradación con figuras de mielina. En las células 13S se demuestran partículas radiales de tipo viral, previamente informadas en la literatura, que se localizan dentro de vesículas del retículo endoplásmico rugoso. Las partículas radiales están forma-

das por un halo denso central, del cual emergen pequeños filamentos que terminan en una membrana de forma esférica (fig. 5). El aparato de Golgi es de localización yuxtanuclear. De las cisternas surgen numerosas vesículas con doble membrana, pequeñas y que se distribuyen por todo el citoplasma celular. En ocasiones las vesículas alcanzan mayor diámetro, englobando a otras de menor tamaño o bien material finamente fibrilar, que sugiere desintegración de membranas. En la membrana citoplásmica se originan vesículas de tipo pinocitósico, de características muy semejantes a las antes descritas y que frecuentemente se encuentran reunidas en grupos, vaciando su contenido en otra vesícula de mayor tamaño. Tanto en el sistema de Golgi como en la membrana citoplásmica se originan también vesículas cubiertas. Estas son de mayor tamaño y tienen como característica la adherencia de pequeños filamentos densos a la membrana externa de la vesícula. Por la cantidad de ribosomas, de filamentos, de vesículas y de microtúbulos, las células adquieren diferentes contrastes en su densidad a los electrones.

*Células en medio BHK y con 100 μg/ml de isoprinosine.* La ultraestructura de las células tratadas con isoprinosine es muy semejante a la de las células cultivadas sólo con el medio. Las diferencias consisten en que las células tratadas con isoprinosine acumulan lípidos en el citoplasma (fig. 6); ocasionalmente aparecen en el citoplasma áreas constituidas por túbulos, que sugieren ser sitios de producción y maduración de las partículas radiales. Las estructuras tubulares exhiben una zona

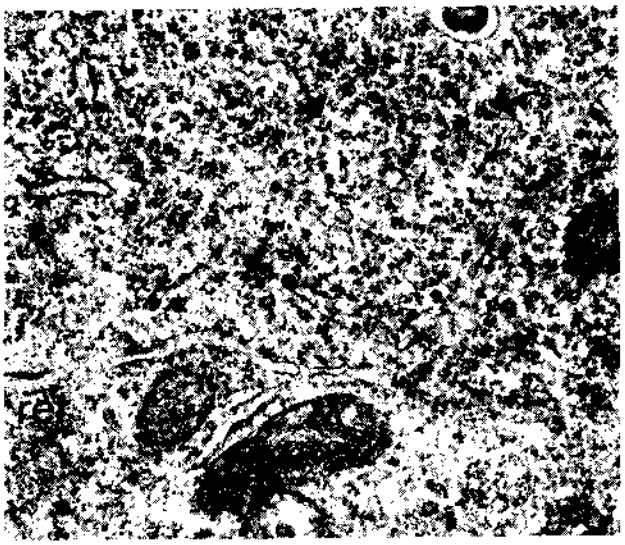



**Fig. 2. Electromicrografía de una célula BHK del grupo "sólo con medio de cultivo". Puede verse con detalle la organización de los polirribosomas (flechas), mitocondrias (M). Estos últimos organelos y el retículo endoplásmico rugoso (rer) son más abundantes en áreas del citoplasma donde los ribosomas están distribuidos con mayor amplitud. 22 000 X.**

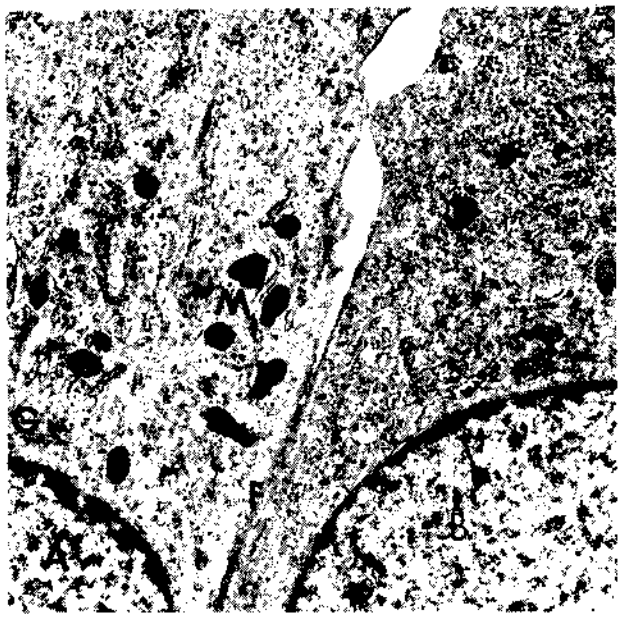



**Fig. 3. Electromicrografía de dos células clona BHK del grupo de control. Nótese que la cantidad de ribosomas y polirribosomas es menor en la célula A que en la célula B; asimismo, la separación de los ribosomas es de mayor amplitud en la célula A, lo que permite la presencia de filamentos finos que corren en diferentes direcciones, de agrupaciones de filamentos (F) en haces de mayor diámetro y de múltiples vesículas, que emanan del sistema de Golgi (G). Las mitocondrias (M) de forma alargada, matriz densa y finas crestas transversales, conservan aparentemente la misma localización y número. Las cisternas de retículo endoplásmico rugoso (flechas) están constituidas por túbulos cortos. El núcleo en ambas células es ovoide, muestra cromatina irregularmente distribuida, la eucromatina se asocia a la membrana nuclear y en la célula B es aparente un nucleólo prominente (nu). 7 000 X.**

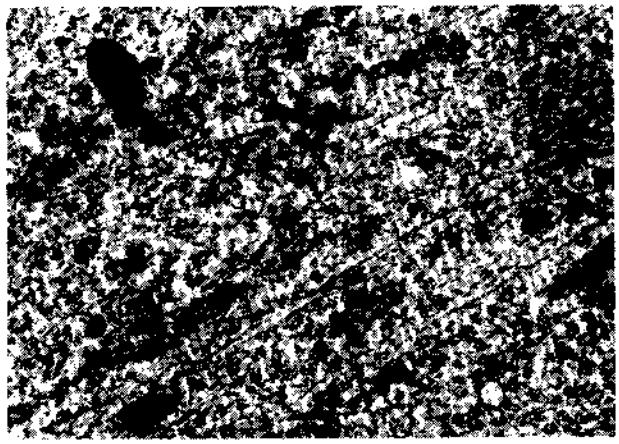


**Fig. 4. Micrografía electrónica del citoplasma de una célula 13SCl. Nótense los microtúbulos (flecha) y los microfilamentos (doble flecha). 23 000 X.**

Fig. 5. Electromicrografía del citoplasma de una célula BHK del grupo control. A mayor amplificación se identifican las partículas radiales (pr) y un centro denso de donde salen filamentos finos que terminan en la doble membrana circundante (rer). Cisternas de retículo endoplásmico rugoso. 52 000 X.

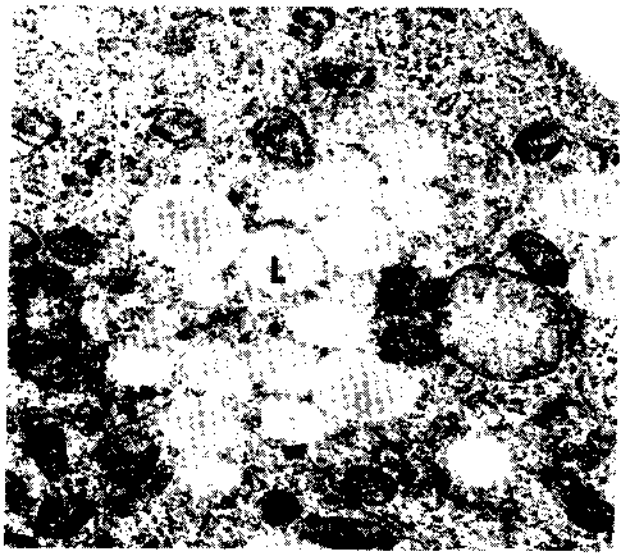



Fig. 6. Electromicrografía de una célula BHK con 100 µg/ml de isoprinosine. Nótese la acumulación de lípidos (L) de tamaño uniforme. 22 000 X.

central densa que en su porción terminal se dobla sobre sí misma para constituir el centro denso de las partículas; allí la membrana envolvente aumenta de diámetro (fig. 7).

Al efectuarse la cuenta de partículas virales en los cultivos de control y en los tratados con isoprinosine, se observa que los primeros contienen en promedio una partícula por cada célula, con un error estándar de 0.22, mientras que los cultivos tratados con isoprinosine contienen 0.86 ± 0.09

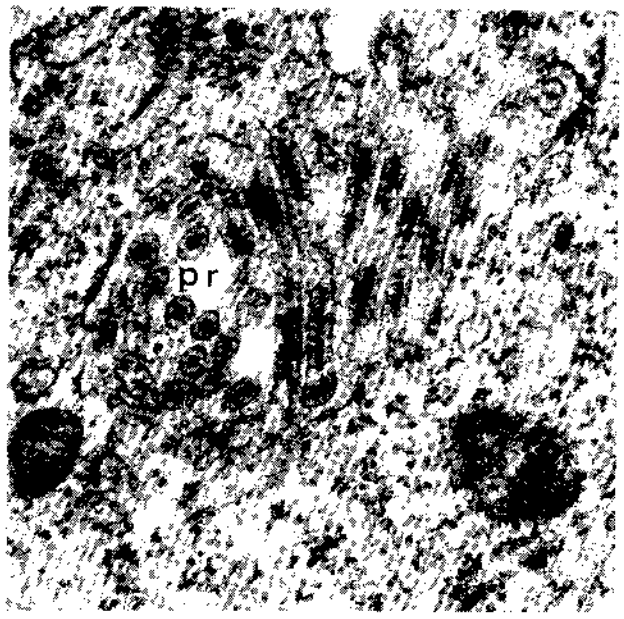



Fig. 7. Electromicrografía de una célula BHK con 100 µg/ml de isoprinosine. Se ilustran túbulos cuya doble membrana es continuación del retículo endoplásmico rugoso. La zona central densa, al doblarse sobre sí misma, sugiere ser la forma como se integra la parte central densa de las partículas radiales (pr). 45 000 X.

Fig. 8. Micrografía electrónica de células 13SCl infectadas con virus rábico. Nótese la presencia de partículas virales rábicas (flecha) con aproximación a las membranas citoplásmicas de las células, mismas que se hacen más densas en el punto de contacto con las partículas virales. 52 000 X.

partículas por células (promedio ± error estándar); al efectuar prueba de t para muestras independientes las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

Fig. 9. Micrografía electrónica de dos células 13SCl infectadas con virus rábico. Las partículas A y B están por desprenderse de la membrana citoplásmica de la célula e inducen la formación de vacuolas de pinocitosis. La vesícula marcada con una flecha contiene dos partículas recientemente ingresadas a la célula. 32 000 X.

Fig. 10. Micrografía electrónica de una célula 13SCl que muestra en el centro una vesícula de pinocitosis con partículas virales (flecha) y material de degradación. 52 000 X.

*Ciclo del virus rábico en cultivos celulares*

El contacto de los virus con la membrana citoplásmica ocurre tanto por la parte plana como por la lateral de las partículas virales, modificándose la estructura de la membrana (fig. 8). Las modificaciones consisten en aumento de la densidad, con una evidente estructura bilaminar junto con finos filamentos en los sitios de interacción entre la membrana celular y las partículas virales.

Los virus se incorporan al citoplasma en vacuolas de pinocitosis. Uno de los patrones de infección más comunes consiste en la penetración de los virus a la membrana citoplásmica por la parte redondeada del virus (fig. 9). Las partículas virales en gemación en la membrana citoplásmica de una célula frecuentemente dan lugar a la formación de vesículas de pinocitosis en la célula vecina (fig. 10). Es común observar vesículas que contienen partículas virales en degradación, así como fagosomas y vesículas con contenido denso y amorfo y maduración de partículas virales en el retículo endoplásmico. En el retículo endoplásmico rugoso se observan partículas virales rábicas de forma tubular abierta, con una pared trilaminar. Hay también partículas radiales en gemación simultá-

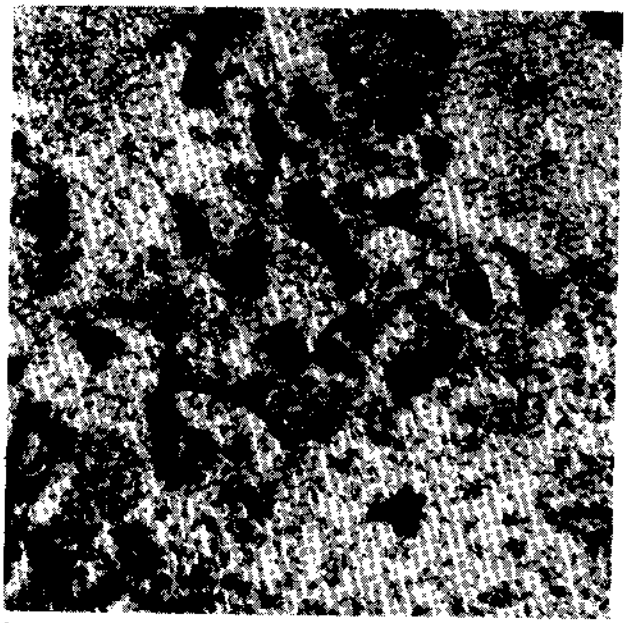


Fig. 11. Micrografía electrónica del citoplasma de una célula 13SCI infectada con virus rábico. Se ilustra parte de un corpúsculo de inclusión que muestra la matriz viral (M) y partículas virales en diferentes estadios de maduración (flechas). 32 000 X.

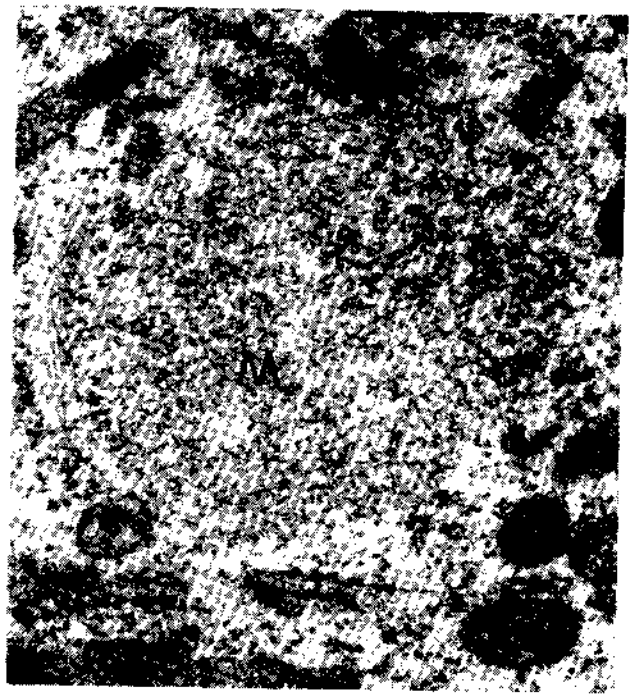
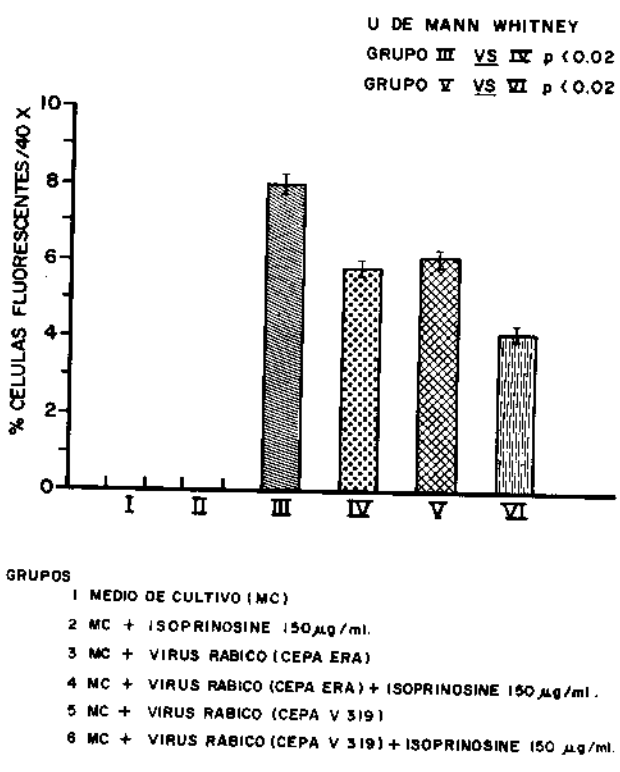


Fig. 12. Micrografía electrónica del citoplasma de una célula 13SCI infectada con virus rábico. Nótese la matriz viral (M). 32 000 X.

Fig. 13. Efecto *in vitro* del isoprinosine en el virus rábico.




nea con las partículas del virus rábico. Las matrices virales de gran tamaño con virus en maduración son escasas (fig. 11), en tanto que en cada célula infectadas hay matrices virales pequeñas (fig. 12).

## EFECTO DEL ISOPRINOSINE SOBRE EL VIRUS RABICO

### *Inmunofluorescencia*

El número de células inmunofluorescentes se aprecia en la figura 13. Cuando se comparan los grupos III y V, que fueron los controles de la multiplicación del virus rábico, con los grupos IV y VI que fueron los grupos tratados con isoprinosine, destaca la disminución del número de células fluorescentes, con la significancia estadística de $P < 0.02$.

Cuadro 1. Estructuras involucradas en la multiplicación viral en 50 células infectadas (Cepa ERA).

| Estructura | Grupo 3 | Grupo 4 | Z (P) |
|---|---|---|---|
| Matrices virales | 62 | 55 | 2.013(0.05) |
| Vesículas con virus | 59 | 24 | 3.911(0.001) |
| Virus membrana citoplásmica | 100 | 67 | 2.373(0.05 |

Z = Desviación normal.

*Microscopía electrónica*

En el cuadro 1 se muestra el número de partículas virales presentes en la membrana citoplásmica, el de matrices virales y el de vesículas citoplásmicas conteniendo partículas virales en 50 células infectadas e incubadas durante 48 horas. En cada célula infectada existen una o dos matrices virales; sin embargo, el número de matrices es menor en el grupo tratado con isoprinosine, con significancia estadística de $P < 0.05$.

Después de las 48 horas de incubación se observaron partículas virales que maduran sobre la membrana citoplásmica o cerca de la misma. El número de partículas virales encontradas en el grupo tratado con isoprinosine es significativamente menor, con $P < 0.05$, que en los grupos controles.

El número de vesículas intracitoplásmicas con virus en maduración o en transporte es también significativamente menor, con $P < 0.001$, en los grupos tratados con isoprinosine, cuando se les compara con sus respectivos controles.

*Titulación del virus*

Los resultados de la titulación del virus rábico en los cultivos celulares antes y después del tratamiento con isoprinosine, se muestran en los cuadros 2 y 3. Hay disminución de 1.9 logaritmos y 1.3 logaritmos, después de 24 horas de incubación, para la cepa ERA y V319 respectivamente; a las 48 horas la disminución es de 1.7 y 1.2 logaritmos para cada una de las cepas virales.

Cuadro 2. Efecto *in vitro* del isoprinosine en el título del virus rábico.

| Grupos | Tratamiento | Título * |
|---|---|---|
| 1 | Medio de cultivo (MC) | 0 |
| 2 | MC más isoprinosine (150 μg/ml) | 0 |
| 3 | ERA cepa viral | $10^{4.9}$ |
| 4 | ERA más isoprinosine (150 μg/ml) | $10^{3.04}$ |
| 5 | V319 cepa viral | $10^{5.8}$ |
| 6 | V319 más isoprinosine (150 μg/ml) | $10^{2.5}$ |

Edad del cultivo: 24 horas.

* Determinado por pruebas de placa en agarosa.

Cuadro 3. Efecto *in vitro* del isoprinosine en el título del virus rábico.

| Grupos | Tratamiento | Título * |
|---|---|---|
| 1 | Medio de cultivo (MC) | 0 |
| 2 | MC más isoprinosine (150 μg/ml) | 0 |
| 3 | ERA cepa viral | $10^{6.1}$ |
| 4 | ERA más isoprinosine (150 μg/ml) cada 24 horas | $10^{4.48}$ |
| 5 | V 319 cepa viral | $10^{5.1}$ |
| 6 | V 319 más isoprinosine (150 μg/ml) cada 24 horas | $10^{3.95}$ |

Edad del cultivo: 48 horas.

* Determinado por pruebas de placa en agarosa.

## Comentarios

El efecto del isoprinosine, en el sentido de aumentar el índice mitógeno, ha sido informado previamente. Se ha demostrado que los linfocitos y macrófagos se estimulan y multiplican mediados por la activación del ácido ribonucleico.[12] El aumento en el índice mitósico en las células 13S-Cl pudiera explicarse sobre las mismas bases que para los linfocitos y macrófagos. Otra posible explicación pudiera establecerse por la inhibición de las partículas radiales presentes en las células 13S-Cl; sin embargo el número de partículas radiales en los grupos tratados con isoprinosine y en los no tratados fue semejante.

Utilizando tres métodos de evaluación en el experimento del estudio antiviral del isoprinosine, como fueron la cuantiación de la inmunofluorescencia, la evaluación del número de estructuras involucradas en la multiplicación viral intracelular por medio del microscopio electrónico y la determinación del título viral, se concluye que el isoprinosine tiene un efecto inhibitorio sobre la multiplicación del virus rábico en el sistema utilizado.

El mecanismo inhibitorio del isoprinosine sobre el virus rábico queda aún por aclararse. Se ha informado que esta droga tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de virus de ácido ribonucleico

y desoxirribonucleico en cultivos celulares. Gordon y Brown proponen como posible mecanismo antiviral del isoprinosine, la modificación de la conformación y función de los ribosomas. Se especula que el isoprinosine induzca rechazo del ARN viral en los ribosomas.[6,7] Cabe también la posibilidad de que el isoprinosine incremente la producción de interferón, que esta proteína sea la responsable del efecto inhibitorio de la multiplicación viral y que se establezca un efecto de asociación isoprinosine-interferón, como ocurre cuando se protege a ratones contra el desafío del virus de la encefalomiocarditis.[13,14]

REFERENCIAS


1. Simon, L. M. y Glasky, A. J.: *Isoprinosine: an overview.* Cancer Treat. Report. *62*:1963, 1978.
2. Muldoon, R. L.; Menzy, L. y Jackson, G. G.: *Effect of isoprinosine against influenza and some other viruses causing respiratory disease.* Antimicrob. Agent Chemother. *2*:224, 1972.
3. Ferruti, M. y Aquisto, R.: *Isoprinosine, a new virustatic for the treatment of genital herpes.* Riv. Patol. Clin. *33*:560, 1978.
4. Hadden, J. W.; Hadden, E. M. y Coffey, R. G.: *Isoprinosine augmentation of phytohemagglutinin-induced lymphocyte proliferation.* Infect. Immun. *13*:382, 1976.
5. Renoux, G.; Renoux, M.; Guillaumin, J. M. y Gouzion, C. H.: *Differentiation and regulation of lymphocyte populations; Evidence for immunopotentiator-induced T cell recruitment.* J. Immunopath. *1*:415, 1979.
6. Gordon, P. y Brown, E. R.: *Isoprinosine: Novel biochemical basis for antiviral action.* Mem. 7th Int. Congr. Praga, 1971. Baltimore, University Park Press. 1972, vol. 1, p. 1247.
7. Gordon, P. y Ronzen, B.: *Inosine-alkylamino alcohol complexes; enhancement of polyribosome function.* Fed. Proc. *29*:864, 1970.
8. MacPherson, I. y Stoker, M.: *Polyoma transformation of hamster cell clones. An investigation of genetic factors affecting cell competence.* Virology *16*:147, 1962.
9. Sedwick, W. D. y Wiktor, T. J.: *Reproducible plaquing system for rabies, lymphocytic choriomeningitis and other ribonucleic acid viruses in BHK 21/13 S agarose suspensions.* J. Virol. *1*:1224, 1967.
10. Siegel, S.: *Non-parametric statistics for the behavioral sciences.* Nueva York, McGraw-Hill Book Co. 1956, p. 116.
11. Brinkley, B. R.; Murphy, P. y Richardson, C. L.: *Procedure for embedding* in situ *selected cells cultured* in vitro. J. Cell Biol. *35*:279, 1967.
12. Hadden, J. W.; England, A.; Sadlik, J. R. y Hadden E. M.: *The comparative effects of isoprinosine, levamisole, muramyl dipeptide and SM 1213 on lymphocyte and macrophage proliferation and activation* in vitro. Int. J. Immunopharm. *1*:17, 1979.
13. Chany, C. y Cerutti, I.: *Enhancement of antiviral protection against encefalomyocarditis virus by a combination of isoprinosine and interferon.* Arch. Virol. *55*:225, 1977.
14. Chany, C. y Cerutti, I.: *Effet stimulant de isoprinosine sur l'action antivirale de l'interferon.* Compt. Rend. Acad. Sci. Paris. Serie D *284*:499, 1977.


## NOTA BIOGRAFICA

El doctor Pablo Hernández Jáuregui cursó la carrera de médico veterinario zootecnista en la ciudad de Veracruz, de 1962 a 1966. Su especial interés por la morfología lo llevó a contribuir como asistente de profesor en la cátedra de histología, materia que no obstante no haber terminado sus estudios generales propios de la profesión, cultivó lo suficiente como para convertirse en profesor asociado. La carrera de investigador del doctor Hernández Jáuregui constituye un ejemplo de la autoenseñanza ligada a la asociación con maestros e investigadores a su alcance, de tal suerte que sus visitas a los laboratorios de patología fueron continuas durante su formación profesional.

En 1968 ingresó a la División de Patología del entonces Departamento de Investigación Científica del Instituto Mexicano del Seguro Social, donde inició proyectos de investigación relacionados con el aparato genital de los equinos. Ha realizado cursos sobre la patología de animales de laboratorio y sobre patología comparada con el Armed Forces Institute of Pathology en los Estados Unidos de Norteamérica. Su producción científica es en la actualidad de 36 publicaciones, editadas en su mayoría en revistas internacionales de alto prestigio académico. Obtuvo el premio de la Academia Nacional de Medicina "Fernando Ocaranza" en 1974, y en colaboración, el premio de la Academia Mexicana de Cirugía en 1973 y 1975, así como el premio de investigación del Instituto Mexicano del Seguro Social, en el año de 1977. Actualmente ocupa el puesto de investigador titular y jefe de la Sección de Patología Comparada en la Unidad de Investigación Biomédica del Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social. Su línea de trabajo versa sobre la reacción tisular a medicamentos en el área de la quimioterapia antiviral.

La Academia Nacional de Medicina lo admitió en el área de Medicina Veterinaria, el 21 de mayo de 1981.

# COMENTARIO OFICIAL

AMADOR GONZÁLEZ-ANGULO *

Es para mí motivo de gran satisfacción el que la Academia Nacional de Medicina me haya designado comentarista oficial del trabajo de ingreso del doctor Pablo Hernández Jáuregui.

Conozco al doctor Hernández Jáuregui desde hace doce años, cuando ingresó al entonces Departamento de Investigación Científica del Instituto Mexicano del Seguro Social, al principio, a la División de Farmacología, en donde inició sus primeros trabajos en relación con efecto de fármacos sobre tejidos animales. Como médico veterinario le resultaba particularmente fácil y agradable la tarea de manejar en forma adecuada el grupo de animales de los proyectos de investigación a su cargo. Por otro lado, su deseo en observar personalmente la naturaleza de los cambios en los tejidos lo llevó a tomar cursos de patología animal y algunos específicamente encaminados al estudio de modelos animales con enfermedades de aparición espontánea similares a las que ocurren en el humano. Surgió así un investigador con experiencia en patología animal, cuya incorporación a la División de Patología a mi cargo en aquella época resultaba lógica.

Durante estos últimos años de su carrera, tuve la oportunidad de trabajar con él en temas de biología de la reproducción, en animales de experimentación y así surgieron más de diez trabajos en relación con la morfología fina de gónadas de equinos y su significado funcional en diferentes condiciones patológicas; y otros tantos, en colaboración con la División de Cirugía Experimental, en relación con la obtención de modelos encaminados a la reestructuración de vasos sanguíneos y nervios periféricos. Uno de estos trabajos fue merecedor del premio "Fernando Ocaranza" de la Academia Nacional de Medicina en 1974 y otro más fue seleccionado para el Premio Nacional de Cirugía "Francisco Montes de Oca" de la Academia Mexicana de Cirugía en 1975. Que sirva esta introducción para explicar la posible parcialidad de mi comentario al trabajo de ingreso del doctor Hernández Jáuregui, ya que se trata de uno de los investigadores más destacados de nuestro grupo de trabajo en la Unidad de Investigación Biomédica del Centro Médico Nacional.

Metodológicamente el trabajo presentado por el doctor Hernández Jáuregui ha cumplido con la secuencia de analizar primero el efecto del isoprinosine en las células en cultivo, demostrando no sólo que las concentraciones utilizadas no producen efectos tóxicos sino que inducen la proliferación de estas células, como Hadden lo ha descrito en otros modelos celulares.[1] El estudio del ciclo del virus rábico en las células derivadas del riñón de criceto ha sido utilizado por otros autores,[2,3] que describen los diferentes estadios de replicación del virus rábico. En estos trabajos se han utilizado altas multiplicidades del virus de la rabia y sustancias facilitadoras de la penetración del virus a la célula, como el dextrán. En el modelo presentado por el doctor Hernández Jáuregui se ha omitido el uso de sustancia alguna que pudiera interferir con la interpretación de los eventos naturales de replicación del virus y se han usado bajas multiplicidades de este microorganismo, lo cual en conjunto establece un modelo adecuado para la evaluación de una droga con posible efecto antiviral, como fue el caso del isoprinosine.

Los resultados presentados en este trabajo indican claramente que el isoprinosine produce un efecto inhibitorio sobre la multiplicación del virus de la rabia. El mismo tipo de efecto de inhibición ha sido demostrado por Simon y col. con otro tipo de metodología como la cuantiación de la hemoabsorción y hemaglutinación de diez variedades del virus de la influenza, tanto *in vitro* como *in vivo*.[4] Existen evidencias clínicas del efecto del isoprinosine en individuos voluntarios expuestos al virus de la influenza tipo A, al demostrarse que las manifestaciones clínicas desaparecen más rápidamente en el grupo tratado con la droga. Simultáneamente se demostró que con el tratamiento hubo aumento de linfocitos.

Por lo mencionado en estos ejemplos seleccionados de los trabajos publicados sobre isoprinosine, el efecto antiviral del compuesto puede calificarse como real. Los mecanismos de acción del isoprinosine en cultivos celulares en cuanto a la modificación de los ribosomas y el rechazo viral, así como la posibilidad de la inducción del interferón, permanecen aún en el terreno especulativo. Da la impresión que el segundo argumento tiene mayores bases, como lo demuestran las observaciones de Chany y Cerutti, acerca de la inducción de interferón después del tratamiento con isoprinosine;[5] además hay constancia de efectos inhibitorios semejantes, que han sido informados por Sulkin al utilizar interferón exógeno en cultivos celulares infectados con el virus de la rabia.[6]

Ingresa el médico veterinario y zootecnista Pablo Hernández Jáuregui, seleccionado y aceptado por méritos propios a los 36 años de edad, al seno de la Academia Nacional de Medicina. A nombre de nuestra Corporación me complace darle la más cordial bienvenida y al mismo tiempo hago votos porque su fructífera labor se siga desarrollando en igual forma dentro de la misma.

## REFERENCIAS


1. Hadden, J. W.; Hadden, E. M. y Coffey, R. G.: *Isoprinosine augmentation of phytohemagglutinin-induced lymphocyte proliferation*. Infect. Immun. *13*:382, 1976.
2. Iwasaki, Y.; Wiktor, T. J. y Koprowski, H.: *Early events of rabies virus replication in tissue cultures. An electron microscopic study*. Lab. Invest. *28*:142, 1973.
3. Hummler, D.; Koprowski, H. y Wiktor, T. J.: *Structures an development of rabies virus in tissue culture*. J. Virol. *1*:152, 1967.
4. Simon, L. N. y Glasky, A. J.: *Isoprinosine: An overview*. Update Report Newport Inst. Med. Res. *2*:5, 1981.
5. Chany, C. y Cerutti, I.: *Effet stimulant de isoprinosine sur l'action antivirale de l'interferon*. Compt. Rend. Acad. Sci. Paris, serie D, *284*:499, 1977.
6. Sulkin, E. S. y Allen, R.: *Interferon and rabies virus infection*. En: *Natural history of rabies*. Baer, G. (Ed.) Nueva York, Academic Press Inc. 1977, p. 355.


* Académico numerario. Departamento de Investigación Biomédica. Subjefatura de los Servicios de Investigación. Instituto Mexicano del Seguro Social.