

Estudios en honor de
Gustavo Hoecker

AUCH, 5ª serie. N° 14 (1987): 179-186

FACTOR DE NECROSIS TUMORAL RECOMBINANTE HUMANO: EFECTO CONTRA UN PARÁSITO INTRACELULAR

ARTURO FERREIRA

En 1983, el Dr. William Coley, un cirujano neoyorquino, observó el fenómeno de necrosis hemorrágica tumoral en un paciente con sarcoma que contrajo una infección estreptocócica concomitante (1). Posteriormente, el Dr. Coley trató a pacientes cancerosos con caldos bacterianos provenientes de cultivos de *Serratia* y *Streptococcus*, con resultados menos claros (2, 3). El producto activo presente en estos caldos bacterianos resultó ser un lipopolisacárido (4, 8) conocido genéricamente como endotoxina. Este producto bacteriano, inductor de caquexia, de shock séptico y de una amplia variedad de otros efectos metabólicos sobre el huésped, no actúa directamente, sino a través de la inducción de la producción de caquectina, hormona macrofágica (monoquina), conocida ahora también como factor de necrosis tumoral o TNF. Efectos similares son también desencadenados por algunas infecciones parasitarias. Así, resultados experimentales obtenidos en conejos (9, 10), parecen reflejar lo que ocurre en otras especies y, probablemente, en el hombre. En el conejo, la infección con *Trypanosoma brucei* produce un dramático cuadro de emaciación, que lleva rápidamente a la muerte, a pesar que los niveles de carga parasitaria alcanzados son relativamente bajos. El progreso de la emaciación se correlaciona con una clara hipertrigliceridemia, causada

Depto. Biología Celular y Genética. Facultad Medicina Norte, Universidad de Chile.
Casilla 70061 Santiago 7, Chile.

y sintomática de la enfermedad. Parte de estos merozoitos se diferenciarán a gametocitos femenino y masculino que serán captados por la picada del vector, iniciándose así la generación de nuevos esporozoitos que se acumularán y madurarán en las glándulas salivales del anopheles.

Diversas observaciones, controversiales e indirectas (10, 26) sugieren que el TNF tendría algún efecto contra esta enfermedad. Estos estudios, basados en el uso de *suero necrosante tumoral* (TNS), preparado inoculando conejos o ratones, primero con BCG o *Corynebacterium parvum* y luego con endotoxina, sugieren la existencia en este suero de un factor citotóxico para cultivos *in vitro* de algunas líneas tumorales y también un efecto antimalárico, al ser administrado pasivamente a animales experimentales. Hoy día sabemos que el TNS, aparte de TNF, contiene una variedad de otros factores que hacen la interpretación de los resultados prácticamente imposible.

Nuestros estudios sobre el efecto antimalárico de TNF, realizados en el Departamento de Patología del Centro Médico de la Universidad de Nueva York, se basan en el uso de la proteína recombinante humana, con actividad específica de 10^8 unidades por mg (generosamente donada por Genentec, Inc.) en dos modelos experimentales de malaria animal (ratas y ratones), inducida por esporozoitos de *Plasmodium berghei*. Ratones de la cepa A/Sn, altamente sensibles, muestran una mortalidad del 100% al ser inoculados con 5000 esporozoitos. La carga parasitaria alcanzada en el hígado de estos animales es muy baja, casi no detectable (27), pero la parasitemia posterior alcanzó niveles de hasta 30%, letal para estos animales.

En las ratas (Norway Brown), en cambio, inoculaciones de 5000 esporozoitos producen una intensa proliferación de estos parásitos en el hígado, seguida por una alta parasitemia, que es bien tolerada por estos animales.

En estudios anteriores (28) hemos demostrado que gamma interferón (γ -IFN) tiene un potente efecto antimalárico al ser administrado intravenosamente a ratas y ratones, 5 horas previas a la infección con esporozoitos. Aunque altamente significativo, este efecto disminuye notoriamente si la inoculación de la linfoquina se aleja en uno u otro sentido del momento de la infección (28). Usando protocolos semejantes, decidimos probar el efecto de TNF recombinante sobre *P. berghei* en el modelo murino A/Sn.

En experimentos pilotos, inoculamos a un grupo de ratones A/Sn con 10^5 U de TNF y cinco horas después los animales recibieron 5×10^3 esporozoitos de *P. berghei*. Estos animales mostraron, en pocas horas, el efecto tóxico de TNF (piloerección, caquexia violenta, que a los 3 días

1.500 U de TNF por hora, confieren protección completa si la administración comienza algunas horas antes de la infección.

¿Cómo podría explicarse el efecto antimalárico del factor de necrosis tumoral?

De los experimentos descritos anteriormente puede concluirse que esta monoquina tiene un potentísimo efecto antimalárico y que para que este efecto se manifieste es necesario que la hormona esté presente durante el desarrollo hepatocítico y, presumiblemente, durante las primeras etapas de la invasión eritrocítica.

Después de inoculado o inducido, TNF se une a receptores presentes en una variedad de tipos celulares, incluidos los hepatocitos. Desgraciadamente los efectos posteriores a la interacción con los receptores son conocidos sólo en términos generales y, por ahora, es difícil explicar porque el efecto antimalárico requiere de un tiempo preciso de administración. Se incluye entre sus efectos: supresión de la biosíntesis de una variedad de moléculas de ácido ribonucleico mensajero específicos de adipocitos, con supresión de muchas enzimas entre las cuales la más notoria es la lipasa lipoproteica (29), inducción de síntesis o secreción de antígenos de histocompatibilidad de clase I (30) e interleukina I (31, 32). Se desconoce aún si existe alguna relación entre estos efectos y la actividad antimalárica de TNF.

Usando una sonda de DNA específica (27) para DNA de *P. berghei* demostramos recientemente (28), que γ -IFN tiene un potente efecto antimalárico intrahepatocítico. Usando esta misma sonda se determinó que, en condiciones de protección completa o casi completa (juzgada por parasitemia), el efecto intrahepático de TNF fue pobre. En otras palabras, al comparar ratas que recibieron bombas con TNF con aquellas que recibieron PBS, el contenido de DNA parasitario en sus hígados, medido en el máximo de proliferación parasitaria, fue similar. Se desconoce también el mecanismo mediante el cual TNF induce shock y necrosis hemorrágica de algunos tipos de tumores.

Algunos autores (33, 34) piensan que es poco probable que TNF se origine como respuesta evolutiva a presiones selectivas ejercidas por neoplasias, y piensan más bien que esta sustancia tendría una función en enfermedades infecciosas. Más aún, una explicación teleológica del problema, que concuerda con nuestros resultados, sugiere que la malaria ejerce y ha ejercido un poderoso efecto selectivo en la evolución de las especies susceptibles. Este efecto sería muy superior al que pudieran haber ejercido los tumores. La especulación va más allá, argumentando que la ausencia de malaria en parte de las especies humana y animales es un lujo relativamente reciente, ya que es muy probable que estas especies

REFERENCIAS

1. COLEY W.B. 1893. *Am. J. Med. Sci.* 105: 487.
2. COLEY W.B. 1906. *Am J. Med. Sci.* 131: 375.
3. NAUTS H.C. 1980. Cancer Research Institute Monographs N° 8, 2nd ed.
4. LE, J. and J. VILCEK. 1987. *Lab. Invest.* 56: 234.
5. SHEAR M.J. and H.B. ANDERVONT. 1936. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 34: 323.
6. KAHLER H., M.J. SHEAR and J.L. HARTWELL. 1943. *JNCI* 4: 123.
7. HARTWELL J.L., M.L. SHEAR and J.R. ADAMS. 1943. *JNCI* 4: 107.
8. SHEAR M.J., F.C. TURNER. 1943. *JNCI* 4: 81.
9. BOUZER C.A. and A. CERAMI. 1980. *Mol. Biochem. Parasit* 2: 31.
10. GUY M.W., R. TRANS. *Soc. Trop. Med. Hyg.* 69: 429.
11. BEUTLER B., J. MAHONEY, N. LE TRANG, P. PAKALA and A. CERAMI. 1985. *J. Exp. Med.* 161: 984.
12. BEUTLER B.A., I.W. MILSARK and A. CERAMI. 1985. *J. Immunol.* 135: 3972.
13. ABE S., T. GATANAGA, M. YAMAZAKI, G. SOMA and D. MIZUNO. 1985. *FEBS Lett* 180: 203.
14. SCHMID D.S., M.B. POWELL, J. TITE and N.H. RUDDLE. 1985. *Fed. Proc.* 44: 1536.
15. AGGARWAL B.B., B. MAFFAT and R.N. HARKINS. 1984. *J. Biol. Chem.* 259: 686.
16. AGGARWAL B.B., W.J. HENZEL, B. MOFFAT, W.J. KOHR and R.N. HARKINS. 1985. *J. Biol. Chem.* 260: 2334.
17. HEDWIN G.E., S.L. NAYLOR and A.Y. SAKAGUHI. 1985. *Nucleic Acids. Res.* 13: 6361.
18. PENNICA D., G.E. NEDWIN and J.S. HAYFLICK. 1984. *Nature* 312: 724.
19. GRAY P.W., B.B. AGGARWAL and C.V. BENTON. 1984. *Nature* 312: 721.
20. CLARK I.A., J.L. VIRELIZIER, E.A. CARSWELL and P. VOCK. 1981. *Infect. Immunity* 32: 1058.
21. TAVERNE J., P. DEPLEGDE and J.H.L. PLAYFAIR. 1982. *Infect. Immunity* 37: 927.
22. HAIDARIS C.G., J.D. HAYNES, M.S. MELTZER and A.C. ALLISON. 1983. *Infect. Immunity* 42: 385.
23. CLARK I. and N.H. HUNT. 1983. *Infect. Immunity* 29: 1.
24. JENSEN J.B., M.T. BOLAND, J.S. ALLAN, J.M. CARLIN, J.A. WANDEWAA, A.A. DIVO and M.A.S. AKOOD. 1983. *Infect. Immunity* 41: 1302.
25. WOZENCRAFT A.O., H.M. DOCKYELL, J. TAVERNE, G.A.T. TARGETT and J.H.L. PLAYFAIR. 1984. *Infect. Immunity* 43: 664.
26. TAVERNE J., N. METTHEWS, P. DEPLEGDE and J.H.L. PLAYFAIR. 1984. *Clin. Exp. Immunol.* 57: 293.
27. FERREIRA A., V. ENEA, T. MORIMOTO and V. NUSSENZWEIG. 1986. *Molec. Biochem. Parasitol.* 19: 103
28. FERREIRA A., L. SCHOFIELD, V. ENEA, H. SCHELLEKENS, P.V.D. Meide, W.E. COLLINS, R. NUSSENZWEIG and V. NUSSENZWEIG. 1986. *Science* 232: 881.
29. TORTI, F.M., B. DIECKMANN, B. BEUTLER, A. CEREMI and G.M. RINGOLD. 1985. *Science* 229: 867.