

# Interferón gamma: aspectos básicos, importancia clínica y usos terapéuticos

Dulce A Mata-Espinosa,\* Rogelio Hernández-Pando\*

\* Departamento de Patología. Sección de Patología Experimental. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

## ***Gamma interferon: basics aspects, clinic significance and therapeutic uses***

### **ABSTRACT**

*Interferons are a family of pleiotropic cytokines, their name was assigned because of their anti-replicative viral activity. IFN $\gamma$  or immune type II interferon does not share receptors with the type I interferon, its structure is different and its gene is located in different chromosome, although its biologic effects are similar. Along of several years of research, it has been found that IFN $\gamma$  enhances the transcription of genes involved in immunomodulation, antiviral responses and antitumoral activities. Regarding to the immune system, IFN $\gamma$  increases the cytotoxic and phagocytic activity of macrophages and upregulates the expression of major histocompatibility complex (MHC) class I and class II molecules in dendritic cells and other antigen presenting cells. IFN $\gamma$  also promotes the development and differentiation of naive CD4 $+$  T lymphocytes to Th1 helper subset. Indeed, this cytokine has a key role in the control of bacterial, micotic, viral and parasitic infections. Depending of the micro-environment, IFN $\gamma$  has a dual role as pro or anti inflammatory cytokine. Novel therapeutic strategies are currently being developed with the aim to enhance the immune response or replace IFN $\gamma$  gene abnormal expression with beneficial results in humans, being recombinant IFN $\gamma$  safe and well tolerated.*

**Key words.** Type II or  $\gamma$ -interferon. Immune response. Effect therapeutic.

### **INTRODUCCIÓN**

En 1957 Isaacs y Lindenmann descubrieron una sustancia que protegía a las células *in vitro* de la infección viral, ellos la denominaron interferón.<sup>1</sup> Hoy se sabe que ésta es una familia de proteínas con actividad antiviral secretadas en respuesta a diferentes estímulos, constituyéndose en las primeras citocinas descritas y utilizadas terapéuticamente.

### **RESUMEN**

Los interferones son una familia de citocinas pleiotrópicas, cuyo nombre se les asignó porque inhiben la replicación viral. El IFN $\gamma$  o interferón inmune tipo II no comparte receptores con los interferones tipo I y tipo III, su estructura es distinta y su gen está localizado en un cromosoma diferente, aunque sus efectos biológicos son similares. A través de años de investigación se ha encontrado que el IFN $\gamma$  potencia la transcripción de genes involucrados en actividades immunomoduladoras, antivirales, antitumorales y antiproliferativas. En el sistema inmunológico, el IFN $\gamma$  aumenta la actividad citotóxica y fagocítica de macrófagos e induce la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase I y II en células dendríticas y otras células presentadoras de antígeno. El IFN $\gamma$  también incrementa el desarrollo y diferenciación de células T cooperadoras 1 (Th1). Debido a esto, el IFN $\gamma$  tiene un papel clave en el control de infecciones bacterianas, fúngicas, virales y parásitarias. El IFN $\gamma$  tiene un papel dual, es pro y anti inflamatorio, lo cual lo convierte en una proteína singular debido a que su comportamiento depende del medio en el que se encuentre. Se han desarrollado nuevas estrategias terapéuticas con el objetivo de potenciar la respuesta inmune o reemplazar la deficiencia de la expresión de su gen, los resultados en humanos son exitosos, el IFN $\gamma$  recombinante es seguro y bien tolerado.

**Palabras clave.** Interferón  $\gamma$  o tipo II. Respuesta inmune. Efecto terapéutico.

Hay tres tipos de interferones. Los interferones del tipo I o clásicos se dividen en cuatro clases (IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\omega$  e IFN $\tau$ ). Los interferones  $\alpha$  son una familia de proteínas relacionadas, codificadas por distintos genes y son sintetizadas por leucocitos. El IFN $\beta$  es una sola proteína codificada por un gen distinto y es producida por fibroblastos. Los interferones de tipo I son proteínas importantes de la inmunidad innata, son producidas en respuesta a la

infección viral, tienen capacidad antiproliferativa, efectos inmunomoduladores y actividad antitumoral.<sup>2,3</sup> Los del tipo III fueron recientemente descritos y se conocen como los IFN-λs, en humano se han descrito el IFNλ1, -λ2, -λ3.<sup>4</sup> Los interferones de tipo III son estructural y genéticamente distintos a los interferones tipo I aunque comparten propiedades biológicas y vías de señalización con los interferones tipo I, la diferencia radica en que los tipo III se unen a distintos receptores de membrana (IFNLR y IL10R2).<sup>3,4</sup>

El IFNγ o interferón inmune tipo II es producido por linfocitos T CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, células Tγ/δ, así como por células NK en respuesta a algún estímulo inmune o inflamatorio. El IFNγ no comparte receptores con los interferones de tipo I y su estructura proteica es distinta.<sup>5-7</sup> En los últimos años se ha demostrado que las células mieloides (células dendríticas, macrófagos y neutrófilos) también son capaces de producir IFNγ a través de la estimulación con interleucina (IL)-12 e IL-18. La autoactivación de las células mieloides por IFNγ contribuye al control inicial de la infección.<sup>8,9</sup>

La producción de IFNγ es inducida por patógenos, por el entrecruzamiento de moléculas de superficie, por antígenos específicos, por la activación del receptor de células T o por estimuladores de células T no específicos como la fitohemaglutinina, la concanavalina-A, ésteres de forbol e ionóforos, también se estimula por citocinas (IL-1, IL-2, IL-12, IL-18), factores de crecimiento y estrógenos.<sup>5,10</sup> La expresión del gen de IFNγ se inhibe por glucocorticoides, TGFβ e IL-10, así como por el inmunosupresor ciclosporina-A a través del factor de transcripción NF-ATp.<sup>10,11</sup>

En esta revisión se describen los aspectos básicos más importantes del IFNγ, tales como sus características bioquímicas, regulación genética, señalamiento intracelular, función y participación en diversas enfermedades, así como su uso terapéutico, en particular la terapia génica con adenovirus que expresan IFNγ como una nueva forma de inmunoterapia en enfermedades diversas, tanto en modelos experimentales como en pacientes.

### ESTRUCTURA BIOQUÍMICA Y SÍNTESIS DEL IFNγ

El gen que codifica al IFNγ humano y murino está constituido por cuatro exones y tres intrones, se localiza en el cromosoma 12 humano y 10 murino. La homología a nivel de nucleótidos del IFNγ murino y humano es de 64% y en la región 3' no tra-

ducida es de 68%. Sin embargo, a nivel de secuencia de proteína la homología es de 40%, lo que explica la estricta especie-especificidad del IFNγ murino comparado con el IFNγ humano, ya que este último tiene actividad viral sobre células de ratón, conejos, bovinos y monos, mientras que el IFNγ murino sólo actúa sobre células murinas.<sup>12</sup>

La forma biológicamente activa del IFNγ es como homodímero estabilizado por fuerzas no covalentes, con subunidades de 143 aminoácidos (a.a.) en el humano (17.1kDa) y 133 a.a. en el ratón (15.9kDa).<sup>12</sup> El IFNγ es sintetizado como una proteína precursora de 166 a.a. (humano) y 155 a.a. (ratón), e incluye una secuencia señal de 23 y 22 a.a., respectivamente. El IFNγ murino y humano contienen dos secuencias potenciales de N-glicosilación en diferentes posiciones.<sup>12</sup>

Durante la biosíntesis del IFNγ humano los péptidos son N-glicosilados, por análisis electroforético en SDS-PAGE se observaron tres formas de IFNγ que difieren en el grado de glicosilación. El IFNγ I de 25 kDa que contiene más carbohidratos que el IFNγ II de 20 kDa y el IFNγ III de 15.5 kDa que no contiene carbohidratos, cuando se trataron con una mezcla de glicosidasas se redujo su tamaño, el IFNγ I se redujo a 18.5 ± 0.5 kDa, el IFNγ II a 15.5 ± 0.5 kDa y el IFNγ III no se alteró, aun sin la presencia de carbohidratos la actividad antiviral se conservó.<sup>13</sup>

El punto isoeléctrico del IFNγ murino es entre pH 5.5 y 6, la discrepancia entre este valor y el predicho por su naturaleza excesivamente básica puede ser debido a que puede glicosilarse con el ácido siálico. El IFNγ murino al igual que el IFNγ humano tienen actividad antiviral, son sensibles a pH 2 y a la temperatura (65 °C por 1h).<sup>13</sup>

La estructura cristalográfica del IFNγ humano confirma su naturaleza homodimérica y revela que las subunidades se sostienen en configuración anti-paralela, cada monómero posee 6 α-hélices que comprenden aproximadamente 62% de la estructura, no contiene hojas β-plegadas. La estructura dimérica está estabilizada por el entrecruzamiento de las hélices, a través de interacciones entre las subunidades, el N-terminal de cada cadena está juxtapuesto al C-terminal de la cadena opuesta por intervención de los dominios helicoidales.<sup>14</sup> El interferón puede existir asociado a la matriz extracelular donde ejerce un control juxtaocrino. Los neutrófilos almacenan IFNγ que liberan en respuesta a agentes degranulantes y algunas poblaciones de macrófagos inducen la expresión constitutiva de IFNγ reclutada en sitios de almacenaje intracelular.<sup>9</sup>

## CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS Y GENÉTICAS DEL RECEPTOR DE IFN $\gamma$

La actividad biológica del IFN $\gamma$  es mediada por un receptor específico, este receptor de IFN $\gamma$  o de tipo II<sup>15,16</sup> se expresa en todas las células con excepción de los eritrocitos maduros y es especie-específico en la capacidad de unión a su ligando.

El receptor funcional de IFN $\gamma$  está constituido por dos proteínas de IFN $\gamma$ R1 (cadena de 90kDa, denominada cadena  $\alpha$ , cadena de unión al ligando o CD119W) y dos proteínas de IFN $\gamma$ R2 (cadena de 60kDa, denominada cadena  $\beta$  cadena de transducción de señales o factor accesorio -1)<sup>6,17</sup> (Figura 1).

Los genes que codifican a los receptores IFN $\gamma$ R1 e IFN $\gamma$ R2 contienen siete exones y están localizados en los cromosomas 6 del humano y 10 de murinos para el receptor IFN $\gamma$ R1 y los cromosomas 21 del humano y 16 de los murinos para el receptor IFN $\gamma$ R2.<sup>5</sup>

La porción extracelular de IFN $\gamma$ R1 contiene el dominio de unión al ligando y la porción intracelular contiene los dominios necesarios para la transducción de señales y el reciclamiento del receptor. La porción extracelular de IFN $\gamma$ R2 interacciona con el complejo IFN $\gamma$ R1/IFN $\gamma$  y la porción intracelular es necesaria para la transducción de señales.<sup>17</sup> Los niveles de expresión de las cadenas que forman el receptor de IFN $\gamma$  difieren significativamente, ya que las cadenas  $\alpha$  se expresan de forma constitutiva en niveles

moderados, a diferencia de las cadenas  $\beta$  cuyo nivel de expresión es bajo y regulado por estímulos externos, así que las cadenas  $\beta$  son un factor crítico en la capacidad de respuesta a IFN $\gamma$  en ciertas células.<sup>17</sup>

En los fibroblastos y macrófagos las cadenas  $\alpha$  del receptor entran a una poza intracelular, ahí se acumulan hasta que posteriormente se reciclan a la superficie celular.<sup>17</sup>

La estructura cristalográfica del receptor revela que el dominio extracelular de unión al ligando de la cadena IFN $\gamma$ R1 esta constituido por dos dominios tipo III de fibronectina (FBNIII). Estos dominios FBNIII están constituidos por una estructura en sándwich formada por dos estructuras en hoja- $\beta$  plegada, la estructura de IFN $\gamma$ R2 es similar a la cadena IFN $\gamma$ R1.<sup>5,17</sup> La estructura del complejo IFN $\gamma$ /IFN $\gamma$ R1 presenta la simetría de unión de dos IFN $\gamma$ R a un dímero de IFN $\gamma$ , esto ha sido demostrado por análisis de la estructura cristalográfica.<sup>18</sup>

## TRANSDUCCIÓN DE SEÑALES POSTERIOR A LA UNIÓN LIGANDO-RECEPTOR

Como se observa en la figura 1, el ligando IFN $\gamma$  es un homodímero que se une a las dos cadenas IFN $\gamma$ R1, facilitando la unión de las dos proteínas del IFN $\gamma$ R2 al complejo IFN $\gamma$ R1/IFN $\gamma$ . Este evento permite que los dominios intracelulares de los receptores se aproximen induciendo la asociación de las JAK cinasas (tirosinas cinasas de la familia de las cinasas Janus). La unión del ligando resulta en una transfosforilación de las JAK cinasas y la subsiguiente fosforilación de la tirosina 440 de IFN $\gamma$ R1. A través de su dominio SH2, una STAT1 (transductores de señales y activadores de la transcripción) reconoce y une cada sitio de tirosina fosforilada del IFN $\gamma$ R1 ( $_{440}$ YDKPH $_{444}$ ). El receptor IFN $\gamma$ R1 asociado a STAT1 se fosforila en tirosina y se activa, se forman homodímeros de STAT1 que se translocan al núcleo donde se unen a secuencias de activación de IFN $\gamma$  o GAS (sitio de activación de IFN $\gamma$ ) de genes inducibles de IFN $\gamma$  presente en los promotores de los genes estimulados por IFN (ISG) que contienen la secuencia consenso TTCN(2-4)GAA.<sup>3</sup> El motivo intracelular ( $_{270}$ LI $_{271}$ ) es importante para dirigir al receptor a través de la célula incluyendo el reciclamiento del mismo a la superficie.<sup>5,6,17</sup>

Cuando no hay estímulo, los receptores IFN $\gamma$ R1 e IFN $\gamma$ R2 no se asocian fuertemente; sin embargo, la cinasa Janus1 inactiva (JAK1) se une a la secuencia de 4 aminoácidos ( $_{266}$ LPKS $_{269}$ ) del dominio intracelular de IFN $\gamma$ R1, mientras que la JAK2 inactiva se une a una secuencia rica en prolinas ( $_{263}$ PPS IPL-

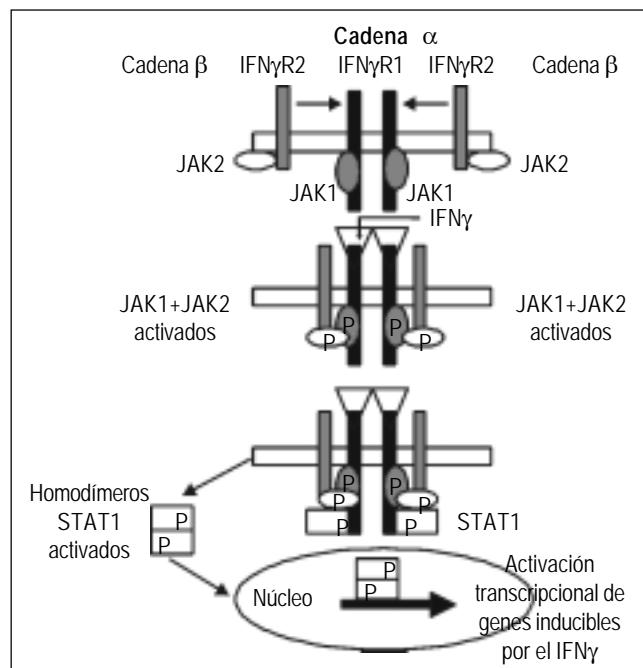


Figura 1. Mecanismo de señalización del receptor de IFN $\gamma$ . Los detalles del mecanismo se describen en el texto (Tomado y modificado<sup>6,17</sup>).

QIEEYL<sub>274</sub>) en el dominio intracelular de IFN- $\gamma$ R2.<sup>6,17</sup>

Una gran variedad de citocinas y factores de crecimiento pueden activar a STAT1, pero ¿cuál es entonces la especificidad de la vía de señalización JAK-STAT?, para contestar esta pregunta los animales deficientes del gen STAT1 han ayudado mucho,<sup>19,20</sup> ya que estos animales tienen una deficiencia en la capacidad de responder a IFN $\gamma$  o IFN $\alpha$ . Las células derivadas de estos animales no iniciaron la transcripción de genes inducibles por interferón tales como el factor regulatorio de interferón -1 (IRF-1), la proteína de unión a guanilato-1 (GBP-1), el transactivador de la molécula del MHC clase II y la proteína del complemento C3. Además estos animales son sensibles a la infección por *Listeria monocytogenes* y el virus de la estomatitis vesicular. En contraste, los animales deficientes del gen STAT1 presentan respuestas normales a la IL6, IL10, factor de crecimiento epidérmico y hormona de crecimiento. Estos estudios revelan la importancia de la proteína STAT1 en los efectos biológicos mediados por IFN $\gamma$ , su especificidad es dependiente de dos procesos temporal y espacialmente distintos: el reclutamiento específico de STAT1 al receptor de IFN $\gamma$  activado en la membrana plasmática y la inducción específica en el núcleo de la transcripción de los genes activados por IFN $\gamma$  por los dímeros de STAT1.<sup>17</sup>

Además del mecanismo descrito previamente, IFN $\gamma$  induce la transcripción a través de otras vías, algunas de las cuales requieren de la expresión de nuevas proteínas celulares. Por ejemplo, los heterodímeros STAT1:STAT2 se asocian con la proteína de unión al DNA factor 9 regulatorio de IFN (IRF-9) también conocido como P48 o ISGF3 $\gamma$  para formar el complejo heterotrimérico ISGF3. Éste último se une a un elemento de respuesta estimulado por interferón (ISRE) presente en los promotores de diferentes genes estimulados por interferón. La entrada al núcleo de las STATs a través de los poros nucleares esta mediado por la importina- $\alpha/\beta$ , una vez dentro del núcleo las proteínas STAT se disocian de la importina y se unen a las secuencias GAS, ISRE o vía Crk. Los interferones tipo I y II inducen la fosforilación de las proteínas Crk, la relevancia biológica de la activación de ésta vía radica en que la expresión de CrkL y CrkII es necesaria para los efectos supresores de IFN $\alpha$  e IFN $\gamma$ . CrkL forma un heterodímero con STAT5 y se transloca al núcleo uniéndose a los elementos GAS presentes en los promotores de ciertos genes sensibles a IFN.<sup>3,21</sup>

La inducción de las moléculas del MHC II es a través del factor de transcripción CIITA. IFN $\gamma$  indu-

ce la expresión de c-myc y c-jun en ausencia de STAT1.<sup>5,10</sup>

Los genes que codifican para las JAKs, STATs, IRFs, SOCS, así como las fosfatasas de las STAT son reguladas transcripcionalmente por el IFN $\gamma$ , las vías de señalización pueden sobreaparse, lo cual puede tener un efecto sinérgico o antagonista.<sup>10</sup>

El factor SOCS-1(suppressor of cytokine signaling-1) inhibe el efecto biológico de IFN $\gamma$ , actúa a través de la vía JAK/STAT. SOCS-1 une a los cuatro miembros de la familia de las JAK inhibiendo su actividad catalítica. La importancia de la acción reguladora de SOCS-1 fue evidente en los ratones *knock-out* para SOCS-1. Estos animales mueren entre la 2a y 3a semanas de edad, por causa de necrosis del hígado, infiltración de macrófagos en varios órganos y múltiples anormalidades hematopoyéticas incluyendo linfopenia. La muerte prematura de los animales se previno utilizando anticuerpos neutralizantes anti-IFN $\gamma$  o al cruzar animales *knock-out* para IFN $\gamma$  y SOCS-1.<sup>22</sup>

#### ACTIVIDADES BIOLÓGICAS DEL IFN $\gamma$ Y SU PAPEL PATOFISIOLÓGICO

El IFN $\gamma$  potencia la transcripción de varios genes involucrados en actividades inmunomoduladoras, antivirales y antiproliferativas (apoptosis).<sup>5</sup> El IFN $\gamma$  como molécula inmunomoduladora es muy pleiotrópica, tiene la capacidad de aumentar la actividad citotóxica y fagocítica de los macrófagos, también induce la expresión de moléculas del MHC clase I y II en las células dendríticas y otras células presentadoras de antígeno, incrementa el desarrollo y diferenciación de las células T cooperadoras 1 (Th1), regula la respuesta humoral induciendo la producción de IgG2a e IgG3 por las células B murinas, promueve la actividad citotóxica de los linfocitos T (CTLs), de las células naturalmente citolíticas (NK) y las células activadas por linfocinas (LAK), además regula la producción de citocinas proinflamatorias.<sup>7,17,23</sup>

La protección inmunológica contra bacterias y parásitos intracelulares depende de la inmunidad mediada por células. El IFN $\gamma$  se encarga de estimular a las células inmunes efectoras, principalmente activa a los macrófagos que a su vez lisan o restringen el crecimiento de las células infectadas. Esta función es importante en la respuesta inmune contra micobacterias. De hecho un mecanismo en los ratones para eliminar a *Mycobacterium tuberculosis* es la producción de los intermediarios reactivos del nitrógeno (RNI) inducida por IFN $\gamma$ , aunque al parecer

en los humanos los RNI no tienen un papel tan importante.<sup>7</sup>

El IFN $\gamma$  se produce en grandes cantidades bajo ciertas circunstancias patológicas tales como trauma, inflamación crónica, infección, cáncer y autoinmunidad. La producción del IFN $\gamma$  como resultado de la activación de la respuesta inmune puede inhibir o potenciar la inflamación y causar daño tisular; sin embargo, cuando hay una producción masiva de IFN $\gamma$  (síndrome de liberación citocínica aguda) se presentan manifestaciones sistémicas graves, tales como sangrados generalizados y choque letal.<sup>22</sup>

El IFN $\gamma$  tiene un papel dual, por sus propiedades pro y anti inflamatorias. Es una citocina que se produce en respuesta a la infección y forma parte importante de la inmunidad innata y adaptativa. El IFN $\gamma$  induce la sobreexpresión de citocinas pro inflamatorias como IL-12, IL-15, factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), proteína-10 inducida por IFN $\gamma$  (IP-10),<sup>24</sup> óxido nítrico sintasa inducible (iNOS), caspasa-1 y gp91 phox, además induce la activación de factores de transcripción pro inflamatorios como el NF $\kappa$ B.<sup>25</sup> La forma de actuar del IFN $\gamma$  es induciendo la expresión de genes dependiendo del tipo celular y de la presencia de otras citocinas que sinergizan (ej. TNF $\alpha$ ) o antagonizan (ej. IL-4), también actúa en sinergia con la IL-2 e IL-1 $\alpha$ .<sup>5</sup>

Estas propiedades pro inflamatorias contrastan con funciones anti inflamatorias benéficas que se han descrito en artritis reumatoide y artritis estreptocócica,<sup>25</sup> además el tratamiento profiláctico con esta citocina mejora el curso de la nefritis lúpica en ratones MRL lpr/lpr.<sup>26</sup>

La IL-1 $\alpha$  e IL-18 son citocinas involucradas en enfermedades inflamatorias. El IFN $\gamma$  inhibe la producción de IL1 $\alpha$  al reducir los niveles de RNA mensajero en pacientes con artritis reumatoide, suprimiendo la producción de IL-1 $\alpha$  de los macrófagos del fluido sinovial. También, el IFN $\gamma$  induce la producción de antagonistas de IL-18 y de los receptores que compiten por la IL-1 $\alpha$  (IL-1Ra).<sup>25</sup> El IFN $\gamma$  también ejerce una actividad anti inflamatoria a través de la participación de las células T reguladoras. Una expresión temprana y transitoria del IFN $\gamma$  inducida por las células T reguladoras evita la iniciación de una respuesta inmune agresiva a través de la inhibición de la activación y proliferación de las células T al modular la función de las células presentadoras de antígeno, incluso hay evidencia en pacientes que esto puede estar ocurriendo.<sup>27</sup> Se sugiere que a través de las células T reguladoras, el IFN $\gamma$  puede jugar un papel en la inducción o mantenimiento de la no respuesta a antígenos propios y no propios.<sup>28</sup> Fi-

nalmente, otro mecanismo regulador de la respuesta inmunológica mediado por el IFN $\gamma$  es la inducción de la apoptosis. Las células Th2 y las células T "nai-ve" son sensibles al IFN $\gamma$  porque expresan ambas cadenas del receptor de IFN $\gamma$  y al unirse éste se induce apoptosis. En cambio, la pérdida de la cadena IFN $\gamma$ R2 en las células Th1 hace a éstas células resistentes al IFN $\gamma$  induciendo su proliferación.<sup>28</sup>

#### INACTIVACIÓN GENÉTICA DE IFN $\gamma$ , IFN $\gamma$ R1 E IFN $\gamma$ R2 EN RATONES Y HUMANOS

La importancia del IFN $\gamma$  y su receptor en la defensa contra bacterias extracelulares, intracelulares, parásitos y virus fue demostrada en ratones con inactivación genética inducida (*knock-out*).<sup>6,17</sup> Los ratones que carecen de IFN $\gamma$  e IFN $\gamma$ R1 no desarrollan granulomas maduros ni tienen inmunidad protectora cuando se infectan con *Mycobacterium bovis*<sup>29</sup> o *M. tuberculosis* cepa Erdman.<sup>30,31</sup> Cuando se infectan con *Mycobacterium avium* los ratones IFN $\gamma$ R $^{-/-}$  tienen carga bacteriana alta con respecto a los animales control. Tampoco se desarrolla una respuesta inmunológica eficiente en contra de cepas atenuadas de *Salmonella typhimurium* como ocurre en los humanos.<sup>32</sup> De manera interesante, los ratones IFN $\gamma$ R $^{-/-}$  fueron capaces de montar una respuesta curativa a varios virus indicando que el receptor no es el principal mediador de los efectos antivirales *in vivo*.<sup>6</sup>

La ausencia o mutaciones en la cadena  $\alpha$  del receptor de IFN $\gamma$  provocan que los tumores murinos transplantados no respondan al IFN $\gamma$ . Además, los animales inactivados en el gen de la cadena  $\alpha$  tratados con un carcinógeno desarrollan tumores más frecuentemente que los animales control. Se han encontrado tumores humanos insensibles a IFN $\gamma$ , algunos de ellos carecen de la expresión de la cadena  $\alpha$ , otros no expresan JAK1 ni JAK2. Los experimentos de reconstitución en las células de estos tumores muestran que la respuesta al IFN $\gamma$  puede ser restaurada.<sup>17</sup>

En los ratones *knock-out* de IFN $\gamma$  infectados con *Klebsiella pneumoniae*, mostraron que esta citocina es crítica para la resolución de la neumonía y control de la infección pulmonar.<sup>33</sup> También se sabe que los ratones deficientes en IFN $\gamma$  o en su receptor no inducen IP-10, lo que sugiere que esta citocina es clave en la inducción de quimiocinas necesarias para inducir inflamación aguda del pulmón.<sup>24</sup>

Los ratones MLR/lpr/lpr deficientes en el receptor de IFN $\gamma$  se protegen del daño renal, con esto se demostró que el IFN $\gamma$  es esencial para el desarrollo de la nefritis en estos animales.<sup>34</sup>

En los últimos años, se han identificado y caracterizado mutaciones en los receptores de IFN $\gamma$  en humanos, lo cual ha permitido confirmar la importancia de esta citocina en la defensa contra diferentes microorganismos.<sup>6</sup> Personas con mutaciones en los receptores IFN $\gamma$ R1<sup>35</sup> y IFN $\gamma$ R2<sup>36</sup> son más susceptibles a contraer enfermedades por patógenos como micobacterias no tuberculosas, tales como *M. bovis*, *M. fortuitum*, *M. avium*, *M. chelonei* y bacterias como *S. typhimurium*, pero rara vez se infectan con parásitos como *Toxoplasma gondii*, *Legionella*, *Listeria* o por agentes virales. Se sugiere que en estos pacientes el TNF $\alpha$  actúa como una citocina compensatoria, ya que no se afectan sus niveles de expresión en presencia de la mutación del receptor.<sup>17,32</sup>

Al igual que los pacientes con mutaciones en el receptor, los pacientes con auto anticuerpos vs. IFN $\gamma$  también son susceptibles a infecciones micobacterianas de baja virulencia.<sup>37</sup> Kampmann *et al.* describieron la actividad funcional de los auto anticuerpos a través de la inhibición de la producción de TNF $\alpha$  en presencia del suero de los pacientes, además el estudio con microarreglos de DNA mostró el bloqueo de los genes de respuesta a IFN $\gamma$  en presencia de anticuerpo purificado de los pacientes y la inhibición de la expresión de HLA clase II, como consecuencia de la neutralización del IFN $\gamma$  con el suero de estos pacientes.<sup>37</sup>

Se sabe que el IFN $\gamma$  juega un papel clave en la sobrevivencia tumoral de los pacientes inmunocompetentes. En algunos estudios<sup>17</sup> se ha mostrado que algunos tumores humanos desarrollan mutaciones espontáneas en el sistema de señalización de IFN $\gamma$ , este proceso puede contribuir al éxito del establecimiento del tumor.

#### TERAPIA CON IFN $\gamma$ O ANTI-IFN $\gamma$ EN MODELOS ANIMALES

El uso del IFN $\gamma$  como agente inmunomodulador y como agente apoptótico ha sido exitoso en modelos experimentales y en pacientes con diferentes enfermedades (Cuadro 1).

Nishida *et al.* reportaron el uso de adenovirus que expresan el receptor de IFN $\gamma$  (AdIFN $\gamma$ R), incrementaron la actividad biológica de esta citocina y volvieron más sensibles a las células tratadas con los AdIFN $\gamma$ R *in vitro*. Cuando los AdIFN $\gamma$ R fueron inyectados directamente en el tumor se redujo su tamaño y se indujo apoptosis en los animales tratados con el AdIFN $\gamma$ R e IFN $\gamma$  recombinante. Se sugiere que esos resultados fueron debidos a la inducción de la IP-10, la cual es muy importante

como un factor anti angiogénico para la progresión del tumor.<sup>38</sup>

Una nueva estrategia terapéutica para el tratamiento del cáncer *in vivo* es el uso de adenovirus replicativos condicionalmente (CRAd's). Estos adenovirus (CNH30mIFN $\gamma$ ) selectivamente expresan el transgén terapéutico (IFN $\gamma$ ) en células cancerosas, es decir, sólo se replican en la masa celular tumoral sin replicarse en las células normales, esta especificidad es debida al promotor que contienen. Este nuevo sistema presenta tres propiedades antitumorales: oncólisis, antiangiogénesis y la inducción de la respuesta inmune.<sup>39</sup>

Asimismo, el tratamiento con IFN $\gamma$  tiene efectos supresores sobre las células Th2, se disminuye la producción de IL-4 e IL-5 y se inhibe la síntesis de IgE, logrando la disminución del infiltrado de eosinófilos en encefalomieltitis alérgica experimental y en un modelo murino de asma alérgica.<sup>40,41</sup> También se ha demostrado la capacidad del IFN $\gamma$  de suprimir el infiltrado pulmonar de eosinófilos a través de bloqueo de la producción de IL-4 y de la disminución en la producción de leucotrienos.<sup>42</sup>

Hay controversia con los efectos del IFN $\gamma$  en la glomerulonefritis autoinmune que es una enfermedad espontánea en los ratones MRL-lpr/lpr, la cual es parecida al lupus eritematoso sistémico que ocurre en los humanos. Se ha encontrado que el IFN $\gamma$  funciona favorablemente como profiláctico pero no como agente terapéutico.<sup>26</sup> Los ratones knockout que carecen de IFN $\gamma$  o del receptor, o que han sido tratados con anticuerpos monoclonales o receptores solubles, previenen o retardan el lupus murino y la administración de IFN $\gamma$  acelera el desarrollo de la enfermedad.<sup>34</sup> Se han utilizado con éxito proteínas de fusión para neutralizar al IFN $\gamma$ ; constituidas por el receptor de IFN $\gamma$  y segmentos del Fc (IFN $\gamma$ -R-IgG1Fc) que tienen una vida media prolongada y mayor avidez por el ligando.

Durante la diabetes tipo I, las citocinas inflamatorias inducen la expresión de iNOS en los islotes pancreáticos produciendo óxido nítrico que contribuye a la destrucción de las células beta<sup>43</sup> y se ha demostrado que el uso del receptor soluble es protector.<sup>45</sup> El IFN $\gamma$  secretado por el infiltrado celular inmune en la diabetes tipo I, por sí sólo no daña a las células beta, pero junto con otras citocinas como IL1- $\beta$ , TNF $\alpha$  o dsRNA, induce apoptosis, depende de qué factor de transcripción esté presente para que se induzca o no la muerte de las células beta.<sup>44</sup>

El IFN $\gamma$  tiene un papel importante en la inducción de la tolerancia, por lo que es necesario en trasplantes de órganos y células, ya que disminuye las

poblaciones celulares de linfocitos T, evitando el rechazo de injerto contra huésped.<sup>45</sup>

En relación con las infecciones virales, Parvez *et al.* examinaron la eficacia del IFN $\gamma$  recombinante huma-

no solo o con lamivudina en células en cultivo infectadas con un sistema recombinante de baculovirus. Encontraron que IFN $\gamma$  fue efectivo en suprimir la replicación viral al alterar la cinética de los interme-

**Cuadro 1.** Efectos de la terapia con el IFN $\gamma$  en modelos experimentales y en humanos.

Animal	Enfermedad	Efecto	Referencia
<i>In vitro</i>	Diabetes mellitus tipo I	Contribuye a la destrucción de las células beta por la producción de óxido nítrico. IFN $\gamma$ solo no daña, pero junto con otras citocinas como IL1 $\gamma$ y TNF $\alpha$ se induce apoptosis de las células beta.	43,44
<i>In vitro</i>	Infecciones virales Hepatitis B y C.	Eficiente para suprimir la replicación viral	46,47
Ratones MRL Lpr/lpr	Glomerulonefritis autoinmune Parecido al lupus eritematoso sistémico en humanos.	Exacerbación de la enfermedad Funciona como profiláctico pero no como terapéutico.	26,34
Ratones	Tumores inducidos con células tumorales CT26 y Hepa1-6.	Regresión tumoral	39
Rata	Infecciones bacterianas	Aumenta la activación de los macrófagos alveolares y las defensas contra <i>P. aeruginosa</i> .	49,50
Ratones con Células T CD4 $^{+}$ disminuidas.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Pneumocystis carinii</i> , <i>Legionella pneumophila</i>	Reduce la intensidad de la infección por <i>P. carinii</i> .	
Ratones knock-out para IFN $\gamma$ .		Mejora la resistencia a la infección por <i>L. pneumophila</i> , en ratones knock-out tratados con IFN $\gamma$ . Disminuye la carga bacteriana.	
Ratones desnudos	Infecciones parasitarias <i>Mycoplasma pulmonis</i> , <i>Toxoplasma gondii</i> ,	Confiere resistencia a la infección aguda con <i>T. gondii</i> , previene su proliferación en muchos órganos.	51,52
Ratones	Tuberculosis pulmonar progresiva por cepas sensibles y resistentes a fármacos	Utilizando una sola dosis de adenovirus recombinante que expresa AdIFN $\gamma$ hay disminución en la carga bacteriana y daño tisular	54
Humanos	Enfermedad Granulomatosa Crónica Osteopetrosis Congénita Fibrosis pulmonar Idiopática Cáncer de ovario y vejiga (como adyuvante) Esclerosis escleroderma sistémico	Diferentes grados de éxito	3
Humanos	Tuberculosis por cepas sensibles y resistentes a fármacos.	Mejoría de signos y síntomas Cuando se trata a los pacientes con fármacos e IFN $\gamma$ por aerosol.	56-58
Humanos	Enfermedad pulmonar por micobacterias no tuberculosas	Cura microbiológica y resolución clínica de la enfermedad.	59

diarios de la replicación del ADN. El tratamiento secuencial de lamivudina e IFN $\gamma$  por seis días presentó una reducción en la formación del DNAcc (ADN circular cerrado covalentemente), logrando acortar el tiempo de tratamiento. Se sugiere que el uso de IFN $\gamma$  puede ser una alternativa viable para pacientes con hepatitis crónica B, no respondedores al IFN $\alpha$ .<sup>46</sup> Aunque en este caso el IFN $\gamma$  mostró gran eficacia, éste es un ejemplo aislado, ya que en general el tratamiento de la hepatitis B y C ha sido exitoso especialmente con IFN $\alpha$  e IFN $\beta$ .<sup>3</sup>

En otro estudio con células de hepatoma comparan la actividad antiviral de IFN $\alpha$ , IFN $\beta$  y del IFN $\gamma$ . Los tres interferones fueron capaces de suprimir la replicación del virus de la hepatitis C y por análisis de microarreglos encontraron que los tres interferones inducen genes que se requieren para eliminar al virus, pero el IFN $\gamma$  induce ocho genes que se expresaron en máximos niveles a la semana 6 que concuerda con la disminución en la carga viral comparado al IFN $\gamma$  que sólo induce uno de ellos. Esto indica que los genes estimulados por IFN $\gamma$  tienen más relevancia funcional que los genes inducidos por IFN $\alpha/\beta$ ;<sup>47</sup> sin embargo, hay que considerar que estos resultados fueron realizados *in vitro*.

En relación con el uso del IFN $\gamma$  en infecciones micóticas, la respuesta inmune de tipo Th1 y el IFN $\gamma$  son componentes esenciales para la defensa del hospedero contra hongos como *Aspergillus*.<sup>48</sup> La administración por vía intranasal  $5 \times 10^8$  pfu de un adenovirus que expresa el IFN $\gamma$  (AdIFN $\gamma$ ), provocó un incremento de cuatro veces en los niveles de IFN $\gamma$  e IL-12 dentro del pulmón, también disminuyó en 75% la carga fúngica y aumentó la sobrevida de los animales comparado con el grupo control.<sup>48</sup> La administración de IFN $\gamma$  también aumentó la resistencia del huésped a varios agentes bacterianos y parásitos como *Pseudomonas aeruginosa*,<sup>49</sup> *Pneumocystis carinii*,<sup>50</sup> *Mycoplasma pulmonis*,<sup>51</sup> *Toxoplasma gondii*,<sup>52</sup> *Legionella pneumophila*.<sup>53</sup> Resultados recientes en nuestro laboratorio han mostrado una significativa eficiencia de adenovirus recombinantes que expresan IFN $\gamma$  en el tratamiento de la tuberculosis progresiva experimental. En efecto, la administración de una sola dosis por vía intratraqueal en animales con tuberculosis pulmonar progresiva, disminuye significativamente la carga bacilar en ratones infectados con micobacterias sensibles o resistentes a los antibióticos como consecuencia de la restitución de la inmunidad Th-1 protectora, evitando además el daño tisular. Más aún, la administración de este adenovirus

permitió acortar significativamente el tratamiento con antibióticos.<sup>54</sup>

## TERAPIA CON IFN $\gamma$ EN HUMANOS

El IFN $\gamma$  en humanos ha presentado gran eficacia en el tratamiento de la enfermedad granulomatosa crónica, así como en la osteopetrosis congénita, enfermedades en las cuales la utilización de IFN $\gamma$ -1b (ACTIIMUNE) se implementó por la FDA desde 1991 y 2000, respectivamente. El uso de IFN $\gamma$ -1b, como un agente anti fibrótico ha sido utilizado en el tratamiento de la fibrosis pulmonar idiopática, y como adyuvante a un tratamiento primario en cáncer de ovario, cáncer de vejiga, esclerodermia/esclerosis sistémica y tuberculosis principalmente por sus propiedades inmunomoduladoras, con diferentes grados de éxito. Junto con los efectos benéficos del interferón, vienen los efectos colaterales como fiebre, cefalea, mialgia, fatiga, que han logrado reducirse conforme el tratamiento progresó y con la administración de acetominofén.<sup>3</sup>

En concordancia con nuestros resultados experimentales, el IFN $\gamma$  como tratamiento adyuvante a la quimioterapia de pacientes con tuberculosis sensible y resistente a fármacos ha tenido mucho éxito,<sup>55</sup> ya que los signos y síntomas mejoran a partir del primer mes de administración, los cultivos y los frotis se vuelven negativos a la presencia de bacilos y hay una notable mejoría en las lesiones observadas en las radiografías.<sup>56,57</sup> En general, el tratamiento con IFN $\gamma$  recombinante es seguro y bien tolerado, pero costoso. Despues de un año de concluir el tratamiento con IFN $\gamma$ , la mayoría de las personas permanecen negativas en los estudios bacteriológicos, clínicos y radiológicos.<sup>58</sup> Ha sido reportado el caso de una paciente con una infección pulmonar progresiva por micobacterias no-tuberculosas, cuya producción *in vitro* de IFN $\gamma$  en células de sangre total con o sin estímulo indicó deficiencia funcional del IFN $\gamma$ . No hubo ninguna evidencia de mutación en los receptores de IL12, ni de las citocinas IL12 e IL18. Los autores sugieren que la paciente tiene una anomalía en el mecanismo de secreción o transporte del IFN $\gamma$ , ya que se detectaron niveles intracelulares normales o altos en células estimuladas con PMA e ionomicina. El tratamiento con IFN $\gamma$  recombinante inhalado, tres veces a la semana (500  $\mu$ g) por tres meses, fue bien tolerado y con excelentes resultados clínicos.<sup>59</sup>

Aunque hay controversia en los resultados, varios estudios en pacientes con hepatitis crónica C han mostrado que el IFN $\gamma$  no reduce los niveles de RNA viral debido a que se trata de una molécula más inmunomoduladora que antiviral.<sup>60</sup>

Cabe mencionar que para aumentar la vida media de los interferones, se ha utilizado un proceso químico denominado pegilación en donde moléculas de polietilen glicol (PEG) son covalentemente unidas al interferón. El PEG es químicamente inerte y no tóxico, que al unirse al IFN hace que aumente su peso molecular permitiendo una lenta eliminación renal, también reduce su inmunogenicidad, aumenta el tiempo de vida media y solubilidad, confiere resistencia proteolítica y mejora su estabilidad molecular mecánica y térmica.<sup>3</sup>

## CONCLUSIONES

En 1957 Isaacs y Lindenmann descubrieron al interferón y éste fue una de las primeras citocinas descritas, 50 años después existe un vasto conocimiento sobre su estructura bioquímica, codificación y regulación genética, además de que se conocen diversas anomalías genéticas y adquiridas en su síntesis y actividad, lo cual ha permitido empezar a usarlo como un agente terapéutico en modelos experimentales y en algunas enfermedades humanas.

El interferón tipo II es esencial para la protección del hospedero de múltiples enfermedades causadas por bacterias, virus, parásitos, hongos, así como para la eliminación de células malignas, sus efectos pleiotrópicos, la han hecho que sea utilizada en diferentes enfermedades bajo distintas presentaciones tal como proteína recombinante, unida a polietilen glicol, o expresada utilizando vectores adenovirales. La toxicidad asociada con el interferón es un campo abierto para la búsqueda de nuevas formas que reduzcan los efectos adversos, además de que los costos las hagan más accesibles.

El interferón tipo II por las vías de señalización que utiliza tiene la capacidad de regular varios mecanismos que determinan el destino celular. El contexto celular en el que se encuentre el IFN $\gamma$  determinará los efectos biológicos que se produzcan.

La terapia génica utilizando adenovirus recombinantes que expresan dicha citocina puede ser una alternativa eficiente en el tratamiento de enfermedades infecciosas, como la tuberculosis resistente a múltiples drogas o en defectos innatos de la síntesis de IFN $\gamma$ , contribuyendo así en el mejor control de esta enfermedad infecciosa y de otras, como las enfermedades neoplásicas.

## REFERENCIAS

- Isaacs A, Lindenmann J. Virus interference. I. The interferon. *Proc R Soc Lond Ser B Biol Sci* 1957; 147: 258-67.
- Ramos-Bello D, Ramos-Niembro F. Interferón: 50 años después (1957-2007). *Gac Méd Mex* 2008; 144: 55-65.
- Mather SG, Romero-Weaver AL, Scarzello AJ, Gamero AM. Interferon: cellular executioner or white knight? *Curr Med Chem* 2007; 14: 1279-89.
- Uzé G, Monneron D. IL-28 and IL-29: Newcomers to the interferon family. *Biochimie* 2007; 89: 729-34.
- Pestka S, Krause C, Walter M. Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev* 2004; 202: 8-32.
- Dorman SE, Holland SM. Interferon-g and interleukin-12 pathway defects and human disease. *Cytokine & Growth Factor Rev* 2000; 11: 321-33.
- Boehm U, Klamp T, Groot M, Howard JC. Cellular responses to interferon- $\gamma$ . *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 749-95.
- Barbulescu K, Becker C, Schaak JF, Schmitt E, Meyer ZB, Neurath MF. Cutting edge: IL-12 and IL-18 differentially regulate the transcriptional activity of the human IFN- $\gamma$  promoter in primary CD4+ T lymphocytes. *J Immunol* 1998; 160: 3642-7.
- Bogdan C, Schleicher U. Production of interferon- $\gamma$  by myeloid cells- fact or fancy. *Trends in immunology* 2006; 27: 282-9.
- Sen GC. Viruses and Interferons. *Annu Rev Microbiol* 2001; 55: 255-81.
- Rao A. NF-AT: a transcription factor required for the co-ordinate induction of several cytokine genes. *Immunol Today* 1994; 15: 274-81.
- Gray PW, Goeddel DV. Cloning and expression of murine immune interferon cDNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 1983; 80: 5842-6.
- Kelker HC, Le J, Rubin BY, Yip YK, Nagler C, Vilcek J. Three molecular weight forms of natural human interferon gamma revealed by immunoprecipitation with monoclonal antibody. *J Biol Chem* 1984; 259: 4301-4.
- Ealick SE, Cook WJ, Vijay-Kumar S, Carson M, Nagabhushan TL, Trotta PP, et al. Three-dimensional structure of recombinant human interferon- $\gamma$ . *Science* 1991; 252: 698-702.
- Novick D, Orcansky P, Revel M, Rubinstein M. The human interferon-g receptor. *J Biol Chem* 1987; 262: 8483-7.
- Aguet M, Merlin G. Purification of human g interferon receptors by sequential affinity chromatography on immobilized monoclonal antireceptor antibodies and human  $\gamma$  interferon. *J Exp Med* 1987; 165: 988-99.
- Bach EA, Aguet M, Schreiber RD. The IFN $\gamma$  receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 563-91.
- Walter M, Windsor W, Nagabhushan T, Lundell D, Lunn C, Zaudny P, et al. Crystal structure of a complex between interferon- $\gamma$  and its soluble high-affinity receptor. *Nature* 1995; 376:230-235.
- Meraz MA, White JM, Sheehan KCF, Bach EA, Rodig SJ, Dighe AS, et al. Targeted disruption of the STAT-1 gene in mice reveals unexpected physiologic specificity in the JAK-STAT signaling pathway. *Cell* 1996; 84: 431-42.
- Durbin JE, Hackenmiller R, Simon MC, Levy DE. Targeted disruption of the mouse STAT-1 gene results in compromised innate immunity to viral infection. *Cell* 1996; 84: 443-50.
- Xu D, Qu CK. Protein tyrosine phosphatases in the JAK/STAT pathway. *Front Biosci* 2008; 13: 4925-32.
- Warren SA, Starr R, Fenner JE, Scott CL, Handman E, Sprigg N, et al. SOCS1 is a critical inhibitor of interferon-g signaling and prevents the potentially fatal neonatal actions of this cytokine. *Cell* 1999; 98: 597-608.

23. Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon- $\gamma$  and its receptor. *Annu Rev Immunol* 1993; 11: 571-611.
24. Neumann, Emmanuilidis, Stadler, Holzmann. Distinct functions of interferon- $\gamma$  for chemokine expression in models of acute lung inflammation. *Immunol* 1998; 95: 512-21.
25. Mühl H, Pfeilschifter J. Anti-inflammatory properties of pro-inflammatory interferon- $\gamma$ . *Int Immunopharmacol* 2003; 3: 1247-55.
26. Nicoletti F, Di Marco R, Zaccone P, Xiang M, Magro G, Grasso S, et al. Dichotomic effects of IFN-gamma on the development of systemic lupus erythematosus-like syndrome in MRL-lpr /lpr mice. *Eur J Immunol* 2000; 30: 438-47.
27. Schroecksnadel K, Fuchs D. Interferon- $\gamma$  for counteracting T cell activation. *Trends Immunol* 2006; 27: 398.
28. Wood KJ, Sawitzki B. Interferon- $\gamma$ : a crucial role in the function of induced regulatory T cells in vivo. *Trends Immunol* 2006; 27: 183-7.
29. Kamijo R, Le J, Shapiro D, Havell EA, Huang S, Aguet M, et al. Mice that lack that interferon- $\gamma$  receptor have profoundly altered response to infection with Bacillus Calmette-Guerin and subsequent challenge with lipopolysaccharide. *J Exp Med* 1993; 178: 1435-40.
30. Flynn JL, Chan J, Triebold KJ, Dalton DK, Stewart TA, Bloom BR. An essential role for interferon gamma in resistance to Mycobacterium tuberculosis infection. *J Exp Med* 1993; 178: 2249-54.
31. Cooper AM, Dalton DK, Stewart TA, Griffin JP, Russell DG, Orme IM. Disseminated tuberculosis in interferon- $\gamma$  gene-disrupted mice. *J Exp Med* 1993; 178: 2243-7.
32. Janssen R, Wengen A, Verhard E, Boer T, Zomerdijk T, Ottenhoff T, et al. Divergent role for TNF- $\alpha$  in IFN- $\gamma$ -induced killing of Toxoplasma gondii and Salmonella typhimurium contributes to selective susceptibility of patients with partial IFN- $\gamma$  receptor 1 deficiency. *J Immunol* 2002; 169: 3900-07.
33. Moore T, Perry M, Getsoian A, Newstead M, Standiford T. Divergent Role of gamma interferon in a murine model of pulmonary versus systemic Klebsiella pneumoniae infection. *Infect and Immun* 2002; 70: 6310-18.
34. Haas C, Ryffel B, Le Hir M. IFN $\gamma$  is essential for the development of autoimmune glomerulonephritis in MRL/lpr mice. *J Immunol* 1997; 158: 5484-91.
35. Jouanguy E, Lamhamedi CS, Lammes D, Dorman S, Fondaneche MC, Dupuis S, et al. A human IFNGR1 small deletion hotspot associated with dominant susceptibility to mycobacterial infection. *Nat Genetics* 1999; 21: 370-8.
36. Dorman SE, Holland SM. Mutation in the signal transducing chain of the interferon-receptor and susceptibility to mycobacterial infection. *J Clin Inv* 1998; 101: 2364-9.
37. Kampmann B, Hemingway C, Stephens A, Davidson R, Goodall A, Anderson S. Acquired predisposition to mycobacterial disease due to autoantibodies to IFN- $\gamma$ . *J Clin Invest* 2005; 115: 2480-8.
38. Nishida Y, Maeda Y, Hara A, Arima T, Kimura E, Yamashita S, et al. Adenovirus-mediated murine interferon- $\gamma$  receptor transfer enhances the efficacy of IFN- $\gamma$  in vivo. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 1042-7.
39. Su C, Peng L, Sham J, Wang X, Zhang Q, Chua D, et al. Immune gene-viral therapy with triplex efficacy mediated by oncolytic adenovirus carrying and interferon- $\gamma$  gene yields efficient antitumor activity in immunodeficient and immunocompetent mice. *Mol Ther* 2006; 13: 918-27.
40. Gao Z, Kang Y, Xu Y, Shang Y, Gai J, He Q. Inhibition of allergic responsiveness in a murine asthma model via IFN-gamma trasgene expression. *Chn Med J (Engl)* 2002; 115: 1470-4.
41. Tang C, Inman MD, Rooyen N, Yang P, Shen H, Matsumoto K, et al. The Type1-stimulating activity of lung macrophages inhibits Th2- mediated allergic airway inflammation by an IFN $\gamma$ -dependent mechanism. *J Immunol* 2001; 166: 1471-81.
42. Krasnowska M. Effect of recombinant IFN-gamma on IgE-dependent leukotriene generation by peripheral blood leukocytes in patients with pollinosis and asthma. *Arch Immunol Ther Exp* 2000; 48: 287-92.
43. Hahn E, Lee YS, Jun HS. Suppressive effects of glucagon like peptide-1 on interferon-gamma-induced nitric oxide production in insulin-producing cells is mediated by inhibition of tumor necrosis alpha production. *J Endocrinol Invest* 2008; 31: 334-40.
44. Gysemans C, Callewaert H, Overbergh L, Mathieu C. Cytokine signalling in the beta cell: a dual role for IFN gamma. *Biochem Soc Trans* 2008; 36: 328-33.
45. Prud'homme GJ, Lawson BR, Chang Y, Theofilopoulos AN. Immunotherapeutic gene transfer into muscle. *Trends Immunol* 2001; 22: 149-55.
46. Parvez MK, Sehgal D, Sarin SK, Basir SF, Jameel S. Inhibition of hepatitis B virus DNA replicative intermediate forms by recombinant interferon- $\gamma$ . *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3006-14.
47. Cheney IW, Lai V, Zhong W, Brodhag T, Dempsey, Lim C, et al. Comparative analysis of anti-hepatitis C virus activity and gene expression mediated by alpha, beta and gamma interferons. *J Virol* 2002; 76: 11148-54.
48. Shao C, Qu J, He L, Zhang Y, Wang J, Wang Y, et al. Transient overexpression of  $\gamma$ -interferon promotes Aspergillus clearance in invasive pulmonary aspergillosis. *Clin Exp Immunol* 2005; 142: 233-41.
49. Lei D, Lancaster JR, Joshi MS, Nelson S, Stoltz D, Bagby GJ, et al. Activation of alveolar macrophages and lung host defences using transfer of the interferon- $\gamma$  gene. *Am J Physiol* 1997; 272: L852-L859.
50. Beck JM, Liggitt HD, Brunette EN, Fuchs HJ, Shellito JE, Debs RJ. Reduction in intensity of *Pneumocystis carinii* pneumonia in mice by aerosol administration of interferon gamma. *Infect Immun* 1991; 59: 3859-62.
51. Lai WC, Bennett M, Pakes SP, Kumar V, Steuremann D, Owusu I, et al. Resistance to *Mycoplasma pulmonis* mediated by activated natural killer cells. *J Infect Dis* 1990; 161: 1269-75.
52. Suzuki Y, Joh K, Kobayashi A. Tumor necrosis factor-independent protective effect of recombinant IFN- $\gamma$  against acute toxoplasmosis in T-cell deficient mice. *J Immunol* 1991; 147: 2728-33.
53. Steinmüller C, Franke-Ullmann, Lohnmann-Matthes ML, Emendörffer A. Local activation of non-specific defense against a respiratory model infection by application of interferon- $\gamma$ : comparison between rat alveolar and interstitial lung macrophages. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22: 481-90.
54. Mata-Espinosa DA, Mendoza-Rodríguez V, Aguilar-León D, Rosales R, López-Casillas F, Hernández-Pando R. Therapeutic effect of recombinant adenovirus encoding interferon- $\gamma$  in a murine model of progressive pulmonary tuberculosis. *Mol Ther* 2008; 16: 1065-72.
55. Smith-Jones P, Werner L, Virgolini I. Interferon- $\gamma$  for respiratory diseases. *Lancet* 1997; 350: 524.
56. Koh WJ, Kwon OJ, Suh GY, Chung MP, Kim H, Lee NY, et al. Six-month therapy with aerosolized interferon- $\gamma$  for refractory multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. *J Korean Med Sci* 2004; 19: 167-71.
57. Condos R, Rom WN, Schluger NW. Treatment of multi-drug resistant pulmonary tuberculosis with interferon- $\gamma$  via aerosol. *Lancet* 1997; 349: 1513-5.
58. Suárez-Méndez R, García I, Fernández N, Valdés M, Milanés H, Carbonell D, et al. Adjuvant interferon gamma in patients with drug-resistant pulmonary tuberculosis: a pilot study. *BMC Infect Dis* 2004; 4: 44.

59. Hallstrand TS, Ochs HD, Zhu Q, Liles WC. Inhaled IFNg for persistent nontuberculous mycobacterial pulmonary disease due to functional IFN $\gamma$  deficiency. *Eur Respir J* 2004; 24: 367-70.
60. Soza A, Heller T, Ghany M, Lutchman G, Liang T, Germain J, et al. Pilot study of interferon gamma for chronic hepatitis C. *J Hepatol* 2005; 43: 67-71.

*Reimpresos:*

**Dra. Dulce A. Mata Espinosa**  
Sección de Patología Experimental.  
Departamento de Patología.

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición  
Salvador Zubirán.  
Calle Vasco de Quiroga No. 15.  
Col. Sección XVI.  
14080. México, D.F.  
Tel.: 5487-0900 ext.: 2194.  
Fax: 5485-3491.  
Correo electrónico: dmata@ifc.unam.mx

*Recibido el 17 de abril de 2008.  
Aceptado el 2 de septiembre de 2008*