



Inmunomoduladores y Afrodita

Gustavo Acosta Altamirano,* María del Rocío Reyes Montes,* Maribel Hernández Rodríguez,* Luis Enrique Nava Martínez,* Fernando Octavio Pinacho*

RESUMEN

Introducción. Durante el desarrollo de un embarazo, en el sistema inmunitario materno se generan factores inmunomoduladores para evitar el rechazo de las proteínas de origen paterno, por lo que se sintetizan proteínas coriónicas inmunomoduladoras y productos leucocitarios presentes en sangre periférica, cordón umbilical y calostro humano que inhiben la replicación del virus VIH y células neoplásicas. **Material.** Los leucocitos PMN del calostro y leche son, principalmente, neutrófilos que varían en tamaño, presentan vacuolas y gránulos de grasa en el citoplasma y su núcleo es excéntrico; al microscopio electrónico se observan multilobulados con condensación de cromatina periférica. **Conclusión.** Los inmunomoduladores se producen en mujeres embarazadas y en puerperio inmediato, por lo que los denominamos inmunomoduladores específicos del género femenino o inmunomoduladores afrodíticos.

Palabras clave: inmunomoduladores, proteínas coriónicas, productos leucocitarios, neutrófilos.

ABSTRACT

Introduction. During the development of pregnancy, in the maternal immune system immunosuppressive factors are generated to avoid the rejection of proteins of paternal origin, reason why immunosuppressive chorionic proteins and leucocyte products present in peripheral blood are synthesized, umbilical cord and human colostrum that inhibit replication of virus VIH and neoplastic cells. **Material.** Colostrum leukocytes PMN and milk are, mainly, neutrophils that vary in size, present vacuoles and fat grains in cytoplasm and its nucleus is eccentric; at electronic microscope multilobular with peripheral chromatin condensation are observed. **Conclusion.** Immunosuppressives are produced in pregnant women and immediate puerperium, reason why we denominate feminine specific immunosuppressives or aphrodite immunosuppressives.

Key words: Immunosuppressives, chorionic proteins, leucocyte products, neutrophils.

INTRODUCCIÓN

Durante el desarrollo de un embarazo, en el sistema inmunitario materno se generan factores inmunomoduladores para evitar el rechazo de las proteínas de origen paterno, por lo que se sintetizan proteínas coriónicas inmunomoduladoras y productos leucocitarios presentes en sangre periférica, cordón umbilical y calostro humano que inhiben la replicación del virus VIH y células neoplásicas. Por otra parte, los productos leucocitarios también intervienen en el control de padecimientos alérgicos e hiperreactividad bronquial. De manera importante estos inmunomoduladores se producen en mujeres embarazadas y en puerperio inmediato, por lo que los denominamos inmunomoduladores específicos del género femenino, inmunomoduladores afrodíticos.

COMPONENTES INMUNITARIOS DEL CALOSTRO

Leucocitos polimorfonucleares

Los leucocitos PMN del calostro y leche son, principalmente, neutrófilos que varían en tamaño, presentan vacuolas y gránulos de grasa en el citoplasma y su núcleo es excéntrico; al microscopio electrónico se observan multilobulados con condensación de cromatina periférica (Fig. 1). Tienen gran actividad enzimática principalmente de mieloperoxidasa y poseen menos receptores Fc que los PMN de sangre periférica. Entre las actividades funcionales está la quimiotaxis, fagocitosis y capacidad bactericida con producción de metabolitos de oxígeno, demostrado en diferentes estudios *in vitro*. Las células PMN representan de 31-61% del total de células de leche hu-

* Clínica de Inmunodiagnóstico.

mana. Estos macrófagos comparten algunas características de los macrófagos de otros tejidos y fluidos como la adhesión a vidrio y plástico, movimiento ameboide con largos seudópodos, fagocitosis, síntesis y secreción de diversos componentes de complemento, así como de la lisozima.

Se ha demostrado una serie de actividades *in vitro* que los macrófagos de calostro y leche pueden efectuar:

1. Fagocitosis y lisis.
2. Quimiotaxis.
3. Citotoxicidad.
4. Inducción de la respuesta inmunitaria.

Linfocitos

Los linfocitos de calostro y leche son morfológicamente semejantes a los de sangre periférica. Ultraestructuralmente presentan abundantes ribosomas, poco retículo endoplásmico rugoso y sus mitocondrias se agrupan principalmente a un lado del núcleo. Representan de 5 a 10% del total de las células de calostro humano, donde la mayoría son linfocitos T. Con respecto a las subpoblaciones de linfocitos T se ha encontrado una predominancia de T supresoras (Ts), por lo que se sugiere que participan en la protección del sistema inmunitario del lactante en contra de complejos antigenicos formados por proteínas de la dieta.

Los linfocitos de calostro presentan una respuesta proliferativa a PMN, concanavalina A, PMN, antígeno K1 de *E. coli*, PPD y algunos virus como el del sarampión, parotiditis,

rubéola y citomegalovirus, así como una hiporespuesta a antígenos de histocompatibilidad de células alogénicas.

La mayoría de estos antígenos producen una respuesta proliferativa en menor grado al compararse con la de linfocitos de sangre periférica. Por el contrario, se ha observado que estos linfocitos no responden a antígenos como *C. albicans*, toxoide tetánico y estreptocinasa. Además, presentan una baja respuesta proliferativa en cultivo mixto de linfocitos.

PRODUCTO DE TRANSFERENCIA LEUCOCITARIO DE CALOSTRO HUMANO

Factor de transferencia de calostro humano

Los factores de transferencia de sangre periférica diferenciada (ELD) fueron descubiertos en 1949 por el doctor H. Sherwood Lawrence. Llegó a la conclusión de que el extracto contenía un factor capaz de transferir la inmunidad de donador a un receptor. Lawrence denominó esta sustancia factor de transferencia. El FT leucocitario es el material dializable que se obtiene del lisado de células linfoides humanas y, en realidad, a estas preparaciones se les debe denominar extractos leucocitarios dializables (ELD). La primera descripción de los efectos inmunológicos del ELD leucocitario la hicieron Lawrence y Pappenheimer en 1956, cuando en sus investigaciones descubrieron que leucocitos humanos de sangre periférica, lisados, provenientes de individuos que tenían una hipersensibilidad cutánea de tipo tardío (DTH) a un antígeno como PPD, podían transferir una respuesta positiva en los receptores, que anteriormente no eran reactivos a dichos antígenos. Los extractos obtenidos por el método de Lawrence contienen al menos 200 diferentes moléculas con pesos moleculares de 1 a 20 Kda. Dentro de estas moléculas se encuentran un conjunto de proteínas con pesos moleculares entre 3.5 y 5 Kda, que son específicas para algunos antígenos, y se denominan factores de transferencia específicos (FTs). Los FT son péptidos hidrofílicos altamente polares, con partes ácidas, y que tienen dos regiones: una variable y una constante. La secuencia parcial de las regiones constantes de algunos de ellos, ya se conoce. Además de transferir la respuesta inmune celular en forma específica, los ELD tienen efectos sobre los canales de calcio, estimulando el transporte de este ión en las células, probablemente activando la respuesta en células del sistema inmunitario. Estos factores de transferencia son péptidos pequeños, compuestos de 40 aminoácidos que almacenan toda experiencia del sistema inmunológico. Los factores de transferencia tienen tres funciones principales: reconocer, responder, activar.

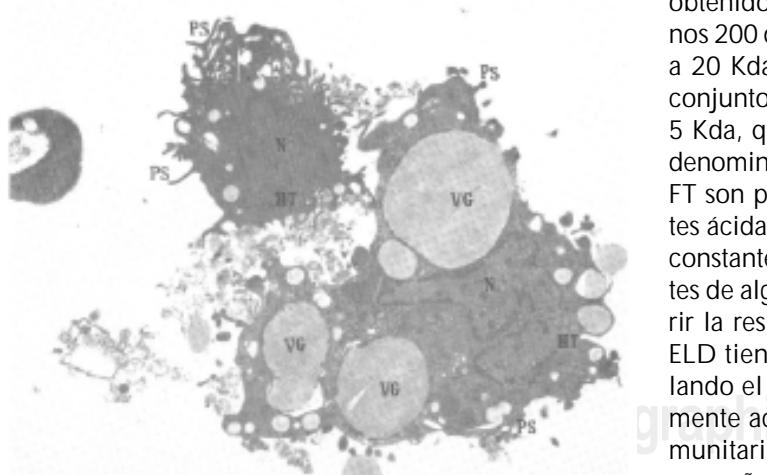


Figura 1. Célula leucocitaria de calostro humano por microscopía electrónica tomado del libro *Inmunología de las mucosas*. Ed. Acosta G. y Cruz M.

El ELD obtenido por nuestro grupo es similar a preparaciones de otros grupos de investigación. En los pacientes con padecimientos malignos como osteosarcoma y carcinoma nasofaríngeo, se ha visto mejoría en la sobrevida. Las propiedades inmunológicas del ELD que se han descrito son: conversión de la respuesta de la DTH a un determinado antígeno de negativa a positiva Capacitación de los linfocitos para producir linfocinas en respuesta a antígenos *in vitro*. Proliferación de los linfocitos en respuesta a un antígeno *in vitro*. Expresión de actividad citotóxica de los linfocitos. Además, se ha reportado incremento en los niveles de TNF en pacientes con herpes zoster que recibieron factor de transferencia. En algunos padecimientos alérgicos se está empleando el factor de transferencia con buenos resultados como en dermatitis atópica y en asma, como se ha demostrado en estudios realizados por el Instituto Nacional de Pediatría. Dadas las características del factor de transferencia, así como los resultados obtenidos hasta el momento, se puede considerar como inmunomodulador.

Las pruebas *in vitro* no han revelado toxicidad, aún en concentraciones más allá de lo que podría ser logrado *in vivo*. Las células inmunes pueden ser separadas en diferentes clases de células. Si una sustancia produce respuestas diferentes en células inmunes, esto indica que la sustancia es un modulador inmune.

Nosotros hemos utilizado diferentes métodos para obtener factores de transferencia del calostro humano; los recién nacidos que no reciben "los factores de transferencia" maternos desarrollan tempranamente procesos infecciosos.

APLICACIÓN DEL PRODUCTO LEUCOCITARIO DE CALOSTRO HUMANO EN DIVERSAS PATOLOGÍAS

Asma extrínseca

En un estudio realizado en el Centro de Investigaciones Médico Quirúrgicas (CIMEQ), en La Habana, Cuba, los pacientes con asma extrínseca evolucionaron en forma satisfactoria, ya que de un total de 250 pacientes, que tenían en promedio siete crisis asmáticas por mes se obtuvieron los siguientes resultados: En 60% de los pacientes desaparecieron las crisis; en 23% el promedio de crisis fue de dos por mes y en el restante 17% el promedio de crisis continuó en siete por mes, aunque éstas fueron de menor intensidad y más manejables. Lo anterior también se ha correlacionado con parámetros de laboratorio, tal es el caso en la disminución de las concentraciones séricas de la IgE y la elevación de los linfoci-

tos T. El esquema de tratamiento es sencillo y consiste en la administración subcutánea de una unidad de ELD, diariamente, durante cinco días, seguida de una serie de cinco unidades de ELD, administrando una unidad por semana. Posteriormente se define en cada paciente la dosis de sostén, que puede ser de una unidad cada mes. En nuestra casuística, los pacientes reciben el producto leucocitario de transferencia de calostro humano con una buena respuesta con la administración sublingual.

Cáncer

Se piensa en inmunomoduladores como un procedimiento para potenciar el sistema inmunitario y disminuir los efectos de la radio y quimioterapia; hasta el momento, hemos empleado el producto leucocitario de calostro humano en cáncer de próstata y linfoma. Los resultados obtenidos han sido satisfactorios y las expectativas de vida han sido superiores a las obtenidas por métodos convencionales. La inmunoterapia de enfermedades neoplásicas con producto leucocitario de calostro humano tiene resultados alentadores, así, Bukowski, a 36 pacientes con melanoma maligno del tipo II de la clasificación de Clark, les realizó excéresis del tumor y posteriormente se dividieron aleatoriamente. El primer grupo fue tratado con ELD semanalmente hasta cuatro dosis y después mensualmente hasta los dos años, el otro grupo no recibió tratamiento alguno. Permanecieron libres de actividad tumoral entre 10 y 12 meses en promedio, con una media de sobrevida de 48.8 y 27 meses ($p \leq 0.17$) nueve y cuatro vivos ($p = 0.05$), respectivamente. Los donadores de ELD no fueron probados en cuanto a su reactividad hacia Ags de melanoma. Un enfoque diferente de tratamiento es la asociación de BCG y ELD específico para Ags de melanoma. Spitler y col. trajeron a un paciente de un estadio IV de Clark, cuyo tumor primario que estaba en el hombro fue extirpado. Y al estudio histopatológico no se encontró infiltrado linfocitario. A los tres años desarrolló metástasis a cerebro y a pulmón, se le realizó excéresis del tumor del cerebro y se le sometió a radiación, seguido de la aplicación de BCG y de ELD. Posteriormente se llevó a cabo la resección del tumor del pulmón encontrándose una densa filtración linfocitaria. El paciente al final del estudio (tres años) se mantenía libre de actividad tumoral. En otra paciente del estadio I de Clark, la aplicación de BCG intralesional no indujo infiltración linfocitaria.

Posterior a la aplicación de ELD, el análisis histopatológico reveló un denso infiltrado linfocitario.

El factor de transferencia obtenido del calostro fue probado individualmente y se encontró que eleva la activi-



dad de las células “natural killer” en 100 por ciento sobre los valores basales. Cuando el factor de transferencia fue combinado con una serie de factores tímicos, los betaglucanos de fuentes múltiples, el resultado fue un incremento sinergístico de la actividad de las células “natural killer” de 24% sobre los valores basales. Esta combinación de factor de transferencia, factores tímicos y extractos de polisacáridos biológicamente activos confirma ser el procedimiento más activo probado hasta la fecha.

Sida-VIH

La epidemia global de HIV-SIDA ha incrementado a 40 millones de personas portadoras alrededor del mundo. El extracto de leucocitos dializables es una molécula baja de peso, de material dializable de leucocitos humanos periféricos en estudios *in vitro*, inducidos con virus sendai (ELD-ind) y más recientemente, con leucocitos no inducidos (ELD-n/i); los resultados previos mostraron una habilidad de ELD-ind para la inhibición del VIH *in vitro* en células MT4, paralela a la reducción de la secreción del TNF-alfa y para el retraso de la progresión *in vivo* de sida en etapa temprana de la infección del VIH. Con el virus de inmunodeficiencia humana tipo I (HIV-1), se ha demostrado previamente que el extracto de leucocitos dializable interfiere en la regulación de regiones contenidas a lo largo de la terminación repetitiva (LTR) implicada en el control de expresión genética viral. En pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (sida), el factor de transferencia ha sido útil en el tratamiento de infecciones por agentes oportunistas. Boskowsky manejó ocho pacientes con diarrea por criptosporidium con ELD obtenido de terneras inmunizadas con eimeria boris. Cinco pacientes habían sido tratados con los fármacos de elección sin revisión del cuadro intestinal.

El ELD se administró por vía sublingual. La diarrea desapareció en cinco pacientes, en cuatro se demostró desaparición del criptosporidium en heces, uno recayó, y, otro estuvo libre del parásito durante mes y medio para después fallecer por otras causas.

Carey y cols. manejaron nueve pacientes con sida con una dosis semanal de F.T. durante un mes (cuatro en total). Antes de la aplicación del ELD todos los pacientes eran enérgicos al PPD y al virus de las paperas. *In vitro*, la transformación blastoide con fitohemaglutinina era negativa.

Después de la aplicación del ELD, seis se positivizaron a cuando menos un antígeno y respondieron a la exposición a fitohemaglofina. Clínicamente se mantuvieron libres de agentes oportunistas durante dos meses, pero a los 28 meses de indicado el estudio todos fallecieron por

diversas causas. DEL, una preparación derivada de leucocitos inmunes es capaz de la inhibición HYIV-1 en la replicación MT-4 de las células. Se examinó el efecto de DEL en la activación de NF-KB y SP1 factores de transcripción, en NF-KB la actividad es completamente reprimida después de siete días de tratamiento con 2.5 U/mL de DEL, con una reducción larga paralela en la cantidad de SP1 del complemento. Estos parámetros correlacionan el efecto inhibidor máximo en la replicación HVI-1 descrito en un reporte previo, IKB-alfa y NF-KB p65 (RELA) gen expresado para la no regulación por ELD ni células MT4. El mecanismo preciso molecular de ELD actividad biológica en HIV-1 infección continua poco claro. Estos reportes de datos presentes implican una potente regulación baja de efecto de ELD en HVI-1 del gen expresión. Actualmente, estamos utilizando el producto leucocitario dializable de calostro humano con resultados muy satisfactorios administrado por vía sublingual o subcutánea

PROTEINAS INMUNOMODULADORA DE LA TRANSCRIPCION VIRAL (PITV)

En otra investigación nos hemos enfocado hacia una proteína coriónica inmunomoduladora de transcripción viral, la cual sería la responsable de disminuir la transcripción viral en células infectadas por el virus VIH y también en varios tipos de cáncer. Los resultados *in vitro* demostraron su actividad antitranscripción en modelos experimentales, por lo que se decidió probar fracciones proteicas en pacientes con sarcoma de Kaposi, un tumor muy frecuente en personas infectadas. El resultado también fue sorprendente: no sólo se redujeron los tumores, sino que disminuyó la cantidad intracelular de virus del sida en la sangre de varios pacientes. El equipo de investigadores utilizó en un principio extractos de orina de mujeres embarazadas y comprobó que algunas fracciones purificadas mostraron el comportamiento esperado. Los experimentos iniciales han demostrado en 15 de nuestros pacientes un aumento estadísticamente significativo en los linfocitos CD4; actualmente continuamos con la purificación de proteínas inhibitorias de la transcripción viral para utilizarlas en un grupo más amplio de pacientes seropositivos; la expresión de los genes del virus del VIH, así como el crecimiento de los tumores del sarcoma de Kaposi se redujo en 80%, las proteínas descubiertas podrían convertirse en un coadyuvante muy importante para la lucha contra el sida. La detección de la proteína PITV es una nueva línea de investigación a seguir en VIH. En el sarcoma de Kaposi (una de las formas que adopta el cáncer de piel), la proteína inhibitoria de transcripción

viral es una proteína que, en principio, podría detener la evolución del sarcoma y la carga viral. Sin embargo, su efecto sobre el virus que provoca el sida aún no parece ser tan potente. Todavía falta identificar completamente las estructuras de las proteínas inhibitorias de la transcripción viral y ampliar las pruebas terapéuticas. Una vez que esto se haya conseguido, se podrán fabricar proteínas artificiales para suministrarlas a pacientes y comprobar sus verdaderos efectos terapéuticos. El descubrimiento inicia una nueva alternativa en la lucha contra el sida. Actualmente se está evaluando la reducción de la carga viral y el aumento de linfocitos CD4 y reducir la mortalidad y la utilización de medicamentos retrovirales. Hasta la fecha no se ha encontrado ningún efecto secundario y no es necesario interrumpir los medicamentos antirretrovirales. Adicionalmente, seguimos la evolución de un grupo de individuos seropositivos y cuantificamos en sangre periférica anticuerpos R7V inducidos en individual progresores lentos.

REFERENCIAS

1. Ojeda OM, Fernandez Ortega C, Araña RJ. Dializable leukocyte extract suppresses the activity of essential transcription factor for HIV-1 gene expression in unstimulated MT-4 cells biochemical and biophysical research communications 273 (2000); 1099-1103.
2. Ojeda MO, van't Veer C, Fernandez Ortega CB, Arana Rosainz M de J, Buurman WA. Dialyzable leukocyte extract differentially regulates the production of TNF-alpha, IL-6, and IL-8 in bacterial component-activated leukocytes and endothelial cells. Inflamm Res 2005; 54(2): 74-81.
3. Ojeda Ojeda M, Fernandez Ortega CB, Arana Rosainz MJ. Dialysable leucocyte extract (DLE) reduces lipopolysaccharide-induced tumour necrosis factor secretion in human leucocytes. Biotherapy 1996; 9(1-3): 163-70.
4. Acosta G, Ortiz J, Barragán L, Torres S, Santos JL. Linfocitos T CD4 y CD8 en calostro y sangre autóloga de mujeres mexicanas. Inmunología (España) 1994; 13: 118-21.
5. Acosta G, Ortiz J, Nateras E, Rocha LM y cols. Inmunología de calostro y leche humana. Enf Infecciosas y Microbiol (Méx) 1992; 12: 293.
6. Inmunología de las mucosas. México, D.F.: Distribuidora y Editorial Mexicana (DEMUSA); 1992.
7. Sandoval ZS, Berrospe GGA, Becerril PJ, García GR, Vargas HV, Acosta AG. Efecto inhibitorio del calostro humano sobre *Vibrio cholerae* O1. Rev Hosp Jua Mex 2001; 68(2): 63-7.
8. Fernandez OC, Dubed M, Ramos Y, Navea L, Alvarez G, Lobaina L, Casillas D, Rodriguez L. Non-induced leukocyte extract reduces HIV replication and TNF secretion biochemical and biophysical research communications 325 (2004); 1075-81.
9. Fujisawa T, Yamaguchi Y, Kimura H. Transfer factor in restoration of cell mediated immunity in lung cancer patients. Jpn J Surg 1983; 13(4): 304-11 (ISSN: 0047-1909).
10. Khan A, Sellars W, Grater W, Graham MF, Pflanzer J, Antonetti A, Bailey J. Hill The usefulness of transfer factor in asthma associated with frequent infections. Ann Allergy 1978; 40(4): 229-32 (ISSN: 0003-4738).
11. Liubchenko TA, Holeva OH, Kholodna LS, Stepanchuk VA, Vershyhara Alu. Human specific transfer factor to *Staphylococcus aureus* antigens [Liuds'kyij spetsyfichnyij Faktor perenosu do antyheniv Staphylococcus aureus.] Fiziol Zh 1997; 43(3-4): 25-32.
12. Pizza G, Viza D, De Vinci C, Palareti A, Cuzzocrea D, Fornarola V, Baricordi R. Immunodiagnosis and immunotherapy. Biotherapy 1996; 9(1-3): 67-72.
13. Pilotti V, Mastorilli M, Pizza G, De Vinci C, Busutti L, Palareti A, Gozzetti G, Cavallari A. Transfer factor as an adjuvant to non-small cell lung cancer (NSCLC) therapy. Biotherapy 1996; 9(1-3): 117-21.
14. Kirkpatrick CH. Activities and characteristics of transfer factors. Biotherapy 1996; 9(1-3): 13-6.
15. Hennen WJ. Transfer factor, natural immune booster Woodland Publishing; 1998.
16. Kirkpatrick CH. Transfer factors: identification of conserved sequences in transfer factor molecules. Mol Med 2000; 6(4): 332-41.
17. Farmer JL, Rosenberg JS, Hester RB, Gottlieb AA. Counter inhibitor: a low molecular weight cytokine derived from human leukocyte dialysates reverses antigen dependent PMN and macrophage migration inhibition. Int Arch Allergy Appl Immunol 1984; 73(2): 146-50.
18. Viza D. AIDS and transfer factor: myths, certainties and realities. Biotherapy 1996; 9(1-3): 17-26.
19. Pizza G, De Vinci C, Fornarola V, Palareti A, Baricordi O, Viza D. *In vitro* studies during long-term oral administration of specific transfer factor. Biotherapy 1996; 9(1-3): 175-85.
20. De Vinci C, Pizza G, Cuzzocrea D, Menniti D, Aiello E, Maver P, Corrado G, Romagnoli P, Dragoni E, LoConte G, Riolo U, Masi M, Severini G, Fornarola V, Viza D. Use of transfer factor for the treatment of recurrent non-bacterial female cystitis (NBRC): A preliminary report. Biotherapy 1996; 9(1-3): 133-8.
21. Ablashi DV, Levine PH, De Vinci C, Whitman JE Jr, Pizza G, Viza D. Use of anti HHV-6 transfer factor for the treatment of two patients with chronic fatigue syndrome (CFS). Two case reports. Biotherapy 1996; 9(1-3): 81-6.
22. Ferrer AVE, Mendoza HL, Hidalgo LH, et al. Factor de transferencia. Una alternativa de tratamiento de las infecciones por



- virus del herpes en pacientes con sida. Rev Med Hosp Gen Mex 1995; 58(4): 148-50.
23. Huerta López José Guadalupe. Factor de transferencia: Una alternativa en el tratamiento de las enfermedades alérgicas. Rev Alerg Asma Inm

Solicitud de sobretiros:

Dr. Gustavo Acosta Altamirano
Clínica de Inmunodiagnóstico
Tuxpan 2-504, Col. Roma Sur.
México, D.F. 06760
Correo electrónico: mq9903@prodigy.net.mx