

Trabajo de revisión

Mecanismo de acción antiviral del interferón

PEDRO LOPEZ SAURA

Centro de Investigaciones Biológicas

Apartado 6996

La Habana, Cuba

RESUMEN

Se hace una revisión bibliográfica sobre el mecanismo de acción antiviral del interferón. El trabajo comprende: (1) la interacción entre los distintos tipos de interferón y sus receptores en la superficie celular y (2) los mecanismos celulares que se desencadenan, incluyendo el sistema oligo A sintetasa, la proteína-quinasa dependiente de ARN de doble cadena y otros mecanismos.

SUMMARY

A review on the mechanism of the antiviral action of interferon is made. It contains: (1) the interaction between the different types of interferon and its receptors on the cell surface, and (2) the cellular mechanisms which are triggered including the oligo A synthetase system, the dsRNA dependent protein kinase and other mechanisms.

Los interferones (IFN) tienen tres tipos de efectos biológicos: antiviral, inhibidor de la multiplicación celular e inmunomodulador. En esta breve revisión, que no pretende agotar el tema, se señalarán los hechos y los mecanismos que se han involucrado de una manera importante para explicar la primera de esas acciones. Incluye dos aspectos:

1. La interacción de la molécula de IFN con receptores en la superficie celular (común a todos los efectos del IFN).
2. Mecanismos celulares que se desencadenan subsiguientemente para producir el efecto antiviral.

1. IFN Y RECEPTORES EN LA SUPERFICIE CELULAR

Desde 1967 se han ido acumulando evidencias indirectas sobre la unión de IFN a receptores en la superficie celular, la naturaleza del receptor (gangliósidos y glicoproteína) y el posible

mecanismo de unión (ver Friedman, 1979). Pero el estudio directo de la unión IFN-receptor tuvo que esperar por que se dispusiera de preparaciones de IFN con un grado de pureza alto y que pudieran marcarse estas proteínas con isótopos radiactivos. Esto se hace bien iodando con ^{125}I preparaciones puras de IFN (Branca y Baglioni, 1981), o bien metabólicamente, agregando algún aminoácido marcado (p.e. ^3H leucina) al medio de cultivo de las células usadas para la producción de IFN, el cual se purifica posteriormente (Yonehara, 1982).

La unión de ^{125}I -IFN de ratón con receptores específicos en la superficie celular quedó demostrada por Aguet (1980, Aguet y Blanchard, 1981), usando células L-1210-S sensibles al IFN. Posteriormente se han obtenido resultados similares usando células e IFN α humanos (Branca y Baglioni, 1981; Mogensen *et al.*, 1981). Mediante análisis cinéticos y del equilibrio de la unión IFN-receptor se ha podido calcular el número de receptores por célula, así como la afinidad de la unión (Aguet y Blanchard, 1981; Branca y Baglioni, 1981; Mogensen *et al.*, 1981; Yonehara *et al.*, 1983 a y b). Los resultados, en esencia, son similares, independientemente de la procedencia del IFN α utilizando (leucocitario, recombinante, linfoblastoide). El número de sitios de unión por célula para el IFN α humano parece estar entre 1 y $1,5 \times 10^3$ en distintas líneas sensibles a este IFN (Yonehara *et al.*, 1983 a y b). Estos mismos autores reportan que la línea GM-258, portadora de una trisomía del cromosoma 21, tiene 2×10^3 sitios de unión por célula, aproximadamente 1,5 veces más que las líneas diploides. Esto resulta interesante, pues las células con trisomía 21 son más sensibles al IFN y se supone que en este cromosoma esté la información para el receptor (Tan *et al.*, 1974). Sin embargo, no se encontró relación cuantitativa proporcional entre el número de sitios de unión y el grado de sensibilidad al efecto antiviral de IFN α linfoblastoide (Yonehara *et al.*, 1983 a) ni tampoco con la sensibilidad a la inhibición de la incorporación de ^3H -timidina en células Daudi (linfoblastoides, humanas) por IFN recombinante α A (Hannigan *et al.*, 1983). En este último trabajo se plantea que habría un exceso de receptores para IFN α pues el efecto máximo se logra con dosis de IFN diez veces menores que las que saturan la superficie celular.

Desde luego, la ausencia de receptores en una línea celular determina la no sensibilidad al IFN. Tal es el caso de las células L-1210-R con el IFN α/β de ratón (Aguet, 1980) y de las células HEC-1 humanas con el IFN α homólogo (Yonehara *et al.*, 1983 a). Por otra parte, la presencia o no de barrera interespecie para la acción del IFN puede explicarse por el grado de afinidad de los IFNs por receptores de células heterólogas. De este modo, no hay unión del IFN de ratón a células humanas ni viceversa (Branca y Baglioni, 1981; Yonehara *et al.*, 1983 a) o la afinidad de la unión es muy baja, como ocurre con la unión de IFN humano a células de rata (Pestka *et al.*, 1983 b). Sin embargo, el IFN α A humano puede unirse a células MDBK bovinas, y con más afinidad que a células humanas (Yonehara *et al.*, 1983 a y b, Pestka *et al.*, 1983 b) y también tiene acción en otras especies (Weck *et al.*, 1981).

En experimentos de desplazamiento de IFN radiactivo unido, se ha encontrado que el IFN β compite con el α por la unión con el receptor, tanto en el ratón (Aguet, 1980; Aguet y Blanchard, 1981) como en el sistema humano (Branca y Baglioni, 1981). Sin embargo, no hay competencia entre los IFNs α y γ (Aguet *et al.*, 1982; Branca y Baglioni, 1981; Anderson *et al.*, 1982 b). Además, las células L-1210-R, carentes de receptores para IFN α sí los poseen para el IFN γ de ratón y son sensibles a sus acciones biológicas (Ankel *et al.*, 1980). Todo esto sugiere fuertemente la existencia de dos tipos de receptores: uno para IFN α y β y otro para IFN γ . El IFN β , en fibroblastos humanos, puede desplazar competitivamente al IFN γ de su unión con el receptor específico, por lo que, al menos en ese tipo celular, parece que puede unirse a ambos tipos de receptores (Anderson *et al.*, 1982 b). La unión a receptores diferentes explicaría, al menos en parte, la potenciación de los efectos biológicos de los IFNs α y γ (Fleischmann, 1982).

Recientemente se han llevado a cabo estudios que permiten realizar algunas correlaciones estructura-función para explicar las interacciones de las moléculas de IFN con sus receptores.

Se ha determinado el peso molecular de las unidades funcionales de los tres tipos de IFN humano mediante el análisis de la inactivación por irradiación (Pestka *et al.*, 1983 a y b). Comparando los resultados obtenidos con los pesos moleculares de las unidades monoméricas (obtenidos de las composiciones exactas de aminoácidos) se sugiere que el IFN α funciona como un monómero, el β como un dímero y el γ como un trímero o un tetrámero. De esa forma, los IFNs γ y α serían muy diferentes en tamaño (20 y 60-80 000 respectivamente), mientras que el IFN β , con un tamaño intermedio, podría interactuar con los dos tipos de receptores.

Por otra parte, se ha estudiado la unión a receptores y las acciones biológicas de los distintos subtipos de IFN α recombinante o de moléculas de IFN sintetizadas por bacterias con genes híbridos de más de un subtipo (Weck *et al.*, 1981; Streuli *et al.*, 1981; Samuel *et al.*, 1982; Hannigan *et al.*, 1983; Yonehara *et al.*, 1983 b; Pestka *et al.*, 1983 b; Alton *et al.*, 1983). Los diferentes subtipos de IFN α humano tienen actividades específicas diferentes y afinidades diferentes por los receptores de las células de distintas especies. Los dos subtipos mayoritarios, IFN α A (α - 2) y el α D (α - 1), difieren notablemente en ese sentido. El IFN α A se une con afinidad alta, tanto a células humanas como bovinas, mientras que el α D sólo tiene alta afinidad por las células bovinas y no por las humanas. Con estos resultados, así como los obtenidos con moléculas híbridas, se ha propuesto un modelo donde el receptor para IFN α en células humanas tendría dos sitios de unión: uno de alta afinidad y baja capacidad, y otro de baja afinidad y alta capacidad. El segmento N-terminal (de 61 aminoácidos de largo) del IFN α A sería el responsable, en la molécula, de la unión con el sitio de alta afinidad, mientras que al otro sitio se une tanto el IFN α A como el α D. El segmento C-terminal del IFN α D es responsable de cierta unión entre esta molécula y los receptores en células de ratón (Samuel y Knutson, 1982 a).

Por último, ha podido aislarse el complejo IFN β -receptor α / β de células L-929 de ratón, con un peso molecular de 125 000. El tamaño del complejo no se afecta por ditiotreitól, indicando que en el receptor no hay subunidades unidas por puentes disulfuro (Samanta *et al.*, 1983). En el caso de células humanas el complejo IFN α A-receptor tiene un peso molecular de 150 000 y tampoco parece haber enlaces disulfuro involucrados en su formación (Joshi *et al.*, 1982)

La formación de este complejo IFN α -receptor depende de la temperatura siendo mayor y más rápida a 37°C que a 0°C, tanto en ratón (Aguet y Blanchard, 1981) como en el sistema humano (Branca y Baglioni, 1981; Branca *et al.*, 1982; Yonehara *et al.*, 1983 a).

2. MECANISMOS INTRACELULARES

Después de la unión con los receptores, una parte del IFN α humano entra a las células y se degrada en los lisosomas; otra parte se libera directamente y en forma activa al medio extracelular. Esta "internalización" y degradación no parecen ser necesarias para la acción del IFN, pues la inhibición de estos procesos no influye sobre la actividad biológica (Branca *et al.*, 1982; Anderson *et al.*, 1982 a). Además, en el sistema de ratón, no se encontró ninguna "internalización" y todo el IFN α se libera al medio de cultivo de células L-1210 (Aguet y Blanchard, 1981). Por otra parte, IFN β humano inyectado directamente en células HeLa mediante micromanipulación, no indujo estado antiviral (Huez *et al.*, 1983). A nivel de la membrana plasmática se ha reportado que el IFN produce un aumento de la fluidez en períodos muy tempranos. (Kuhry *et al.*, 1983).

En la tabla 1 se señalan algunos de los cambios intracelulares encontrados en células tratadas con IFN (Stewart, 1979; Williams, 1983). Uno de los primeros cambios que ocurre es el aumento en la concentración intracelular de GMP cíclico. Sin embargo, este efecto no debe estar vinculado con el estado antiviral, pues el establecimiento de este último no se afecta cuando se inhibe el aumento de GMP cíclico (Rochette-Egly y Tovey, 1982). Ocurre también, aunque más tardíamente, un aumento de la concentración intracelular de AMP cíclico, pero en un estudio con diferentes líneas celulares de macrófagos de ratón se demuestra que este mediador puede estar relacionado con la estimulación de la fagocitosis y con la inhibición del crecimiento celular producidas por IFN, pero no con su efecto antiviral (Schneck *et al.*, 1982; Taylor-Papadimitriou *et al.*, 1983).

Tabla 1

CAMBIOS BIOQUIMICOS INTRACELULARES QUE SIGUEN AL TRATAMIENTO CON IFN

<i>Aumento</i>	<i>Disminución</i>
2-5 A sintetasa	glucosiltransferasa
endonucleasa	enzimas inducibles por glucocorticoides
proteína quinasa	ornitina descarboxilasa
2'-5' fosfodiesterasa	S-adenosil-metionina descarboxilasa
HLA A, B y C	
P ₂ microglobulina	Oxigenasas que usan citocromo P-450
timidina quinasa	
hidroxilasa arilhidrocarburo	
prostaglandina E ₂ , F ₂	ciclo de las pentosas
histamina	ácidos grasos insaturados en la membrana
ARN t metilasa	
colagenasa tipo IV	transporte de timidina
AMP cíclico	proteína-fosfatasa
GMP cíclico	

Para que se establezca el estado antiviral en las células susceptibles tratadas con IFN, se requiere la síntesis de ARN mensajero (ARNm) y de proteínas (Stewart, 1979). La síntesis de nuevos ARNm comienza rápidamente en los primeros 30 ó 40 minutos (Colonno, 1981; Colonno y Pang, 1982; Gustafsson *et al.*, 1982) y la transcripción continúa al menos durante 2 horas o más. El período de latencia de una a dos horas encontrado en algunos sistemas entre el inicio del tratamiento con IFN y el comienzo del desarrollo del estado antiviral (Masters y Samuel, 1983 a) podría explicarse por la necesidad de que se sinteticen los distintos factores que intervienen en el mecanismo antiviral. De los ARNm inducidos por IFN humano, se han podido identificar dos que codifican para la 2'-5' oligoadenilato sintetasa (Samanta *et al.*, 1983; Merlin *et al.*, 1983) y los que corresponden a los antígenos de histocompatibilidad HLA A, B y C y la β_2 microglobulina (Fellous *et al.*, 1982). Hay, además, dos proteínas a las que puede unirse el 2'-5' oligoadenilato (Samanta *et al.*, 1983), tres proteínas posiblemente vinculadas con el efecto estimulador de la actividad de células NK (Gustafsson *et al.*, 1982) y una proteína desconocida de peso molecular 56 000 (Chebath *et al.*, 1983). En este último caso, al igual que en el de la 2'-5' oligo (A) sintetasa se ha clonado el ADNc correspondiente en *E. coli*

(Merlin *et al.*, 1983). Es interesante, que aunque el IFN γ induce esencialmente los mismos ARNm que α y β , hay algunas diferencias cinéticas, cuantitativas y aún cualitativas, entre él y los otros tipos de IFNs (Colonno y Pang, 1982).

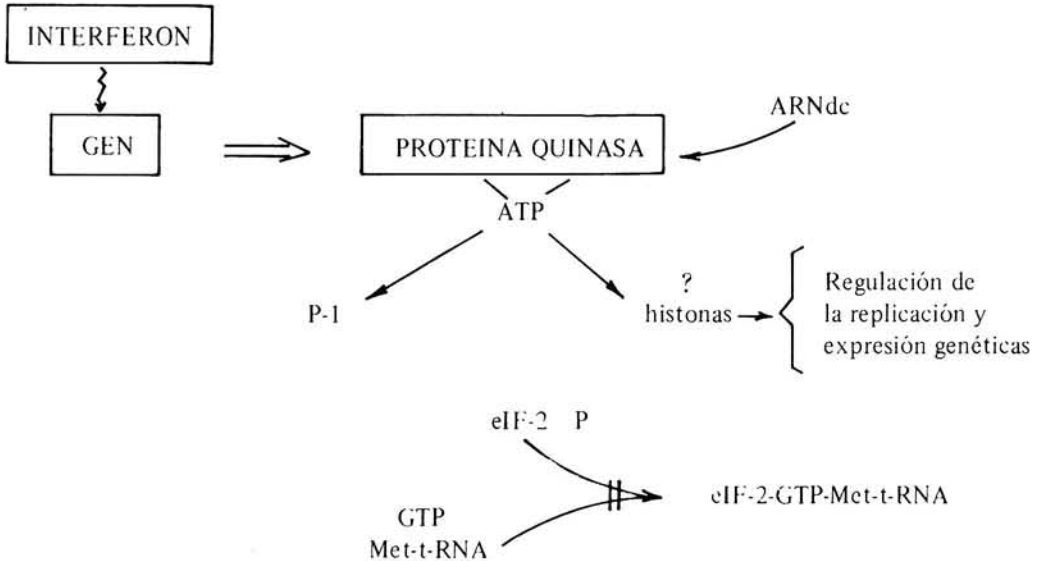
De todos los cambios bioquímicos producidos por los IFNs en células sensibles, los que más han sido relacionados con el mecanismo de acción antiviral son, sin duda, los que conducen a la inhibición de la síntesis de proteínas virales, particularmente mediante la inducción de dos sistemas enzimáticos dependientes de ARN de doble cadena (ARNdc): una proteína-quinasa y el sistema 2'-5' oligoadelinato sintetasa-endonucleasa (Stewart, 1979; Lengyel, 1981; Williams, 1983).

2.1. Proteína-quinasa dependiente de ARNdc

El IFN induce la síntesis de una proteína-quinasa dependiente de ARNdc que fosforila, al menos, dos proteínas celulares: una llamada P1, de peso molecular entre 67 y 72 000 y otra de peso molecular 38 000 que es la subunidad α del factor de iniciación de la síntesis de proteínas eIF-2 (Lebleu *et al.*, 1976; Samuel, 1979). La proteína P1 está asociada a la subunidad 40S ribosomal y, por estudios de purificación, se supone que sea la propia quinasa (Samuel y Knutson, 1982 a). La fosforilación de la subunidad α de eIF-2 lo inactiva e inhibe la síntesis de proteínas al impedir la formación del complejo de iniciación (eIF-2-GTP-Met-ARNt), que debe unirse a la subunidad ribosomal 40S (Clemens *et al.*, 1982; Siekierka *et al.*, 1982).

Esta actividad de quinasa depende de ARNdc, no depende de AMPc. Se ha descrito otra actividad de proteína quinasa inducida por IFN y dependiente de poliaminas, que se purifica junto con la actividad dependiente de ARNdc (Sekar *et al.*, 1982). Además el IFN γ induce en células L de ratón una actividad de proteína-quinasa, independiente de ARNdc que se resuelve en tres fracciones activas, diferenciables además cinéticamente (Ohtsuki *et al.*, 1982).

El IFN ejercería su efecto antiviral a través de esta enzima al inducirla y, en presencia de ARNdc (viral, por ejemplo), se inhibiría la síntesis de proteínas virales (ver esquema 1).



ESQUEMA 1. El IFN induce la síntesis de proteína-quinasa dependiente de ARNdc que fosforila a la proteína P-1, al factor de iniciación eIF-2 (bloqueando la iniciación de la síntesis de proteínas virales) y quizás a histonas lo que pudiera ser otro elemento regulatorio.

No hay ninguna evidencia inequívoca de que mediante este mecanismo se establezca el estado antiviral, pero sí se han obtenido algunos resultados indicativos de que el sistema funciona en células vivas y al menos contribuye al mecanismo de acción antiviral del IFN. Señalemos, por ejemplo:

- La inhibición de la traducción de ARNm viral inducida por IFN en células L, puede revertirse *in vitro* añadiendo preparaciones puras de eIF-2 a la mezcla de reacción de síntesis de proteínas (Kaempfer *et al.*, 1979).
En fibroblastos de ratón (L-929) hubo correlación exacta entre la actividad antiviral frente a virus de la estomatitis vesicular (VSV) y la capacidad inductora de la fosforilación de la subunidad α de eIF-2 de varias preparaciones del IFN de ratón y subtipos de IFNs α humano (Samuel y Knutson, 1982 a).
- La cinética de desaparición del estado antiviral en el sistema anterior, cualquiera que fuese el tipo de IFN usado, coincidió con la de la disminución de la actividad de proteína quinasa que fosforila al factor eIF-2 y a la proteína P1 (Samuel y Knutson, 1982 b).
- Se ha encontrado inhibición de la síntesis de proteínas de VSV inducida por el IFN en ausencia de activación del sistema 2'-5' oligoadenilato sintetasa o de degradación de ARNm viral (Masters y Samuel, 1983 b).
- Al añadir ARNdc a células intactas tratadas con IFN, se produce fosforilación de la proteína P1 (Gupta, 1979).
- La actividad proteína-quinasa para P1 y eIF-2 añadidos, detectada en células infectadas con virus de la encefalomiocarditis (EMC) tratadas con IFN, no depende de ARNdc, indicando una activación previa por el ARNdc de la replicación viral (Golgher *et al.*, 1980).

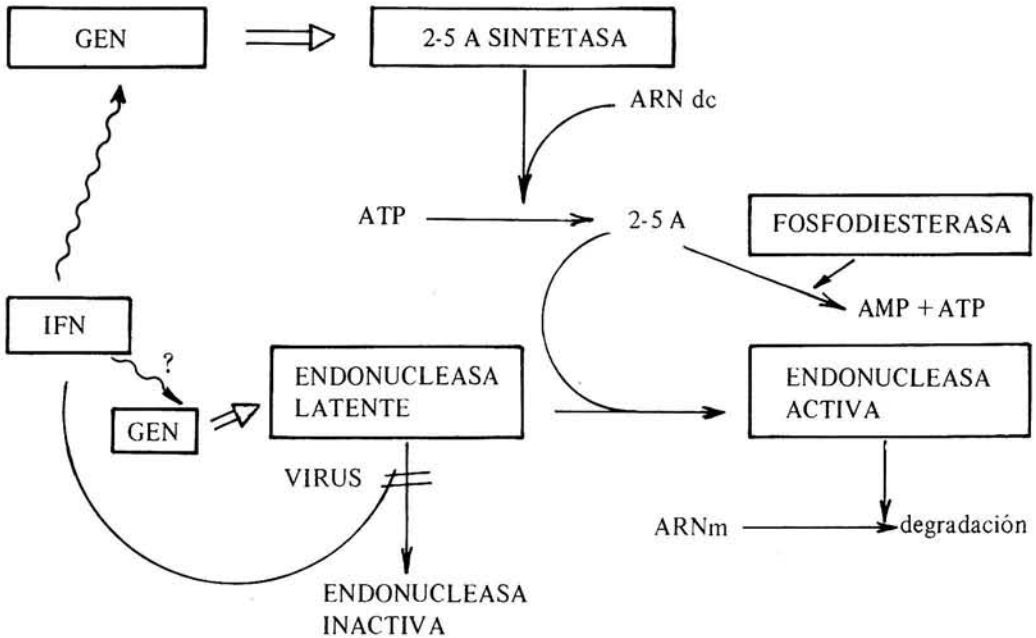
Por otra parte, también hay resultados que indican que en algunos sistemas este mecanismo de fosforilación inducida por IFN no puede explicar la acción antiviral, pues ésta se produce sin que haya inducción de actividad de proteína quinasa (Holmes y Gupta, 1982; Meurs *et al.*, 1981), o sin que haya una correlación clara (Sen y Herz, 1983; Samuel *et al.*, 1982). No puede descartarse que estos resultados, aparentemente contradictorios en algunos casos, se deban a diferencias en los sistemas virus-célula estudiados, a otras cuestiones metodológicas, o al hecho de que en muchos trabajos se usa sólo la fosforilación de la proteína P1 como marcador de esta actividad quinasa, y no la fosforilación de eIF-2, que es la que, al menos hipotéticamente, está involucrada en el mecanismo de acción antiviral del IFN. A estas complicaciones hay que añadir el hecho de que el ARNdc inhibe una fosfoproteína fosfatasa capaz de revertir la acción de la quinasa (Eppstein *et al.*, 1980), lo cual no ha sido tenido en cuenta siempre al diseñar los experimentos o interpretar los resultados.

Por último, se ha señalado la fosforilación de histonas como posible mecanismo regulatorio de la replicación y expresión genéticas a través del cual el IFN también pudiera actuar (Williams, 1983). Las histonas han sido señaladas como sustratos de la proteína quinasa ARNdc dependiente inducida por IFN (Roberts *et al.*, 1976), aunque más recientemente se ha obtenido el resultado opuesto (Samuel y Knutson, 1982 a). De todas formas las proteínas-quinasa inducidas por el IFN γ en células L usan histonas como sustratos.

2.2. Sistema 2-5 (A) sintetasa-endonucleasa

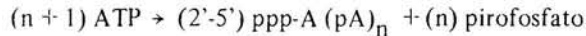
Este ha sido el sistema más utilizado para explicar el mecanismo de acción antiviral del IFN y como ha sido descrito con muchos detalles en otras revisiones (Williams y Kerr, 1980; Lengyel, 1981; Gordon y Minks, 1981; Williams, 1983) sólo se señalarán los aspectos más importantes, sobre todo en las cuestiones biológicas implicadas en él.

El sistema está formado por tres enzimas (ver esquema 2): la 2'-5' oligoadenilato sintetasa (2-5 A sintetasa), la endonucleasa L o F y una fosfodiesterasa 2'-5'.



ESQUEMA 2. El IFN actúa en tres niveles del sistema: induciendo la expresión genética de la 2-5 A sintetasa, posiblemente también la endonucleasa e inhibiendo la inactivación de esta última por la infección viral.

La 2-5 A sintetasa cataliza la síntesis, a partir de ATP, de oligonucleótidos en enlace 2'-5' según la ecuación.



donde $2 \leq n \leq 4$.

A los productos se les llama, en general, 2-5A. Estos enlaces fosfodiéster 2'-5', son un caso único entre los materiales biosintéticos. En determinadas condiciones *in vitro* pueden sintetizarse oligómeros de más de cinco unidades. La actividad biológica como inhibidor de la síntesis de proteínas se pierde si se eliminan los tres fosfatos del extremo 5' (Martín *et al.*, 1979; Williams *et al.*, 1979).

La síntesis de esta enzima es inducida *de novo* por el IFN. Se ha comprobado que se requiere transcripción y traducción del ARNm (Minks *et al.*, 1979); se ha identificado el incremento del ARNm específico para esta actividad (Shulman y Revel, 1980), y a partir de ese ARNm se ha clonado y expresado el ADNc correspondiente en *E. coli*. (Merlin *et al.*, 1983). La inducción por el IFN γ es más lenta que por el IFN α en células HeLa (Baglioni y Maroney, 1980) y en células de ratón (Hovanessian *et al.*, 1980). Parece que en el caso del IFN γ se requiere previamente la síntesis de otra proteína, que sería la inductora de la 2-5 A sintetasa.

La actividad de 2-5 A sintetasa depende, en forma absoluta, de la activación por ARNdc, aunque pueden ser suficientes en ese sentido regiones de estructura secundaria en ARN de cadena simple, así como intermediarios de la replicación viral (Nilsen y Baglioni, 1979; Nilsen *et al.*, 1982).

Los compuestos 2-5 A inhiben la síntesis de proteínas activando a la endonucleasa latente (L o F) al unirse a esta enzima (Slattery *et al.*, 1979; Floyd-Smith *et al.*, 1982). Aunque la endonucleasa se produce constitutivamente, el IFN puede aumentar sus niveles hasta 10 veces en algunas células, por lo que se ha sugerido que pudiera haber otro punto de regulación genética a ese nivel (Williams, 1983).

La infección viral puede hacer a la enzima insensible a la activación por 2-5 A. El IFN puede prevenir esta inactivación (Cayley *et al.*, 1982). La endonucleasa degrada al ARN de cadena simple, incluyendo no sólo al de origen viral, sino también al celular, aunque actúa preferentemente sobre ARN de cadena simple que esté unido covalentemente al ARNdc, pues éste serviría de activador de la 2-5 A sintetasa (Nilsen y Baglioni, 1979) formándose un complejo entre ambas enzimas.

Las principales evidencias de que este sistema funciona *in vivo* y de que interviene en el mecanismo de acción antiviral del IFN, son las siguientes:

- Células tratadas con IFN e infectadas con virus sintetizan 2-5 A (Williams *et al.*, 1979).
- Hay mayor degradación de ARNm de reovirus en células L 929 de ratón tratadas con IFN, que en controles no tratados (Lengyel, 1981).
- En células infectadas con virus EMC y tratadas con IFN, ocurre un patrón de degradación de ARN ribosomal igual al obtenido *in vitro* por activación de la endonucleasa L por 2-5 A (Wreschmer *et al.*, 1981).
- El ARNdc (poli I: poli C) añadido a células tratadas con IFN produce aumento en el nivel intracelular de 2-5 A y en la degradación de polisomas (Nilsen *et al.*, 1981).
- El 2-5 A introducido artificialmente en células inhibe la síntesis de proteínas con activación de la endonucleasa (Williams y Kerr, 1978; Hovanessian *et al.*, 1979). Este tratamiento inhibe la multiplicación viral (Hovanessian y Wood, 1980).
- Ninguno de los efectos de la introducción de 2-5 A en células se produce si éstas son deficientes en endonucleasa (Panet *et al.*, 1981). Esas células endonucleasa (-) no son susceptibles a la protección por IFN a pesar de que éste produce incremento en la actividad de 2-5 A sintetasa (Eppstein, *et al.*, 1981).

La endonucleasa no tiene ninguna especificidad por el ARN viral, sino que degrada también al ARNm y ARN ribosomal celulares. Se han planteado tres vías mediante las cuales el sistema podría tener cierta selectividad hacia el virus:

- a. En la célula infectada puede inhibirse totalmente la síntesis de proteínas; la célula puede morir, pero no se multiplica el virus y se limita la infección.
- b. La inhibición del metabolismo celular puede ser sólo transitoria y la célula puede recuperarse después de que el ARNm viral se degrada; el 2-5 A puede ser destruido rápidamente por la fosfodiesterasa.
- c. El propio ARNdc viral puede "compartimentar" la acción del sistema pues la activación de la 2-5 A sintetasa depende de su presencia. El 2-5 A sintetizado activaría a la endonucleasa *in situ* donde se degradaría el ARNm viral. La fosfodiesterasa limitaría la acción del 2-5 A sólo al sitio donde es sintetizado.

Recientemente se han obtenido resultados que indican que el sistema 2-5 A sintetasa no puede explicar totalmente la acción antiviral del IFN. Por ejemplo:

- En células de carcinoma embrionario de ratón tratadas con IFN no se produce

protección frente a la infección VSV, a pesar de haber aumentado de actividad de 2-5 A sintetasa (Wood y Hovanessian, 1979); pero en las mismas células el IFN produce protección contra virus EMC, que se correlaciona con el aumento de actividad de sintetasa (Nilsen *et al.*, 1980);

- Hay casos donde el IFN produce la protección, pero no aumenta el nivel de 2-5 A sintetasa. Sucede así en fibroblastos de ratón infectados por VSV, aunque aquí se indujo la proteína-quinasa (Hovanessian *et al.*, 1981); en fibroblastos humanos infectados por VSV (Meurs *et al.*, 1981) y en células U humanas, también con VSV (Masters y Samuel, 1983 b); en este caso tampoco hubo disminución del ARNm viral como resultado del tratamiento con IFN, a pesar de que se inhibió la síntesis de proteínas virales.
- No hubo degradación de ARN ribosomal ni de ARNm de células HeLa tratadas con IFN e infectadas con poliovirus, indicando que si hubo activación de la endonucleasa, ésta “reconoció” selectivamente al ARNm viral (Muñoz *et al.*, 1983; Muñoz y Carrasco, 1983).

Por último, se debe mencionar que el sistema 2-5 A sintetasa parece también involucrado en el mecanismo del efecto antiproliferativo del IFN (Williams, 1983). Particularmente interesante parecen los efectos del llamado “2-5 A core” (núcleo desfosforilado del 2-5 A). Este compuesto no tiene acción sobre la síntesis de proteínas ni la activación de la endonucleasa, pero sí tiene efecto citostático (Eppstein *et al.*, 1983). La 2-5 A sintetasa pudiera estar vinculada también a mecanismos de regulación del crecimiento celular independientes de la acción del IFN (Etienne-Smekens *et al.*, 1983).

2.3 Otros mecanismos

Además de la estimulación de los sistemas proteína-quinasa y 2-5 A sintetasa, la acción antiviral del IFN ha sido atribuida a otros mecanismos, involucrando prácticamente todas las fases de la infección viral (ver Stewart, 1979).

Recientemente se ha encontrado que el IFN inhibió la entrada de VSV a células de ratón, de pollo y humanas, mediante inhibición de la endocitosis (Whitaker-Dowling *et al.*, 1983), aunque este efecto se produjo a concentraciones de IFN relativamente altas.

Hay también trabajos que indican que el IFN inhibe la glicosilación de proteínas de VSV (Maheshwari *et al.*, 1983) en células de ratón, aunque en otros se ha obtenido el resultado contrario (Masters y Samuel, 1983 a).

En fibroblastos L-929 de ratón se encontró que para que el IFN produjese protección contra VSV, era necesario que se expresara el gen de timidina quinasa, aun para la inducción de 2-5 A sintetasa y proteína-quinasa (Lewis *et al.*, 1983).

En la infección por virus *Herpes simplex* tipo 1 en células L de ratón se encontró que el IFN protege las células inhibiendo la síntesis de proteínas virales en una etapa muy temprana de la infección, antes de la replicación del ADN viral (Panet y Falk, 1983). Esta inhibición no debe estar medida por el sistema 2-5 A sintetasa, pues ocurre a concentraciones de IFN mucho mayores que la necesaria en esas mismas células para inducir esta enzima. En otro virus ADN, el SV-40, se ha obtenido un resultado similar: el IFN bloquea la infección viral en un estadio muy temprano, antes del inicio de la transcripción del ARNm viral, quizás en el desnudamiento de las partículas virales (Brennan y Stark, 1983). Pero después que se inicia la transcripción, el ARNm viral es resistente a la acción del IFN, aun en células donde la endonucleasa está activada por una infección coincidente por reovirus (Dahler y Samuel, 1982).

Sin embargo, en virus *Herpes simplex* tipo I se ha obtenido también el resultado contrario: el IFN inhibió la infección viral en una de sus etapas tardías y no en las iniciales (Muñoz y Carrasco, 1984).

En el caso de los retrovirus, que producen infecciones crónicas, donde las células constantemente sintetizan y segregan partículas virales, se ha demostrado que la acción antiviral del IFN se ejerce sobre las etapas tardías de la síntesis de partículas virales y en su liberación al medio extracelular, produciéndose acumulación intracelular de partículas virales. En esos casos se ha encontrado afectación del ensamblaje de las partículas virales y de la glicosilación de las proteínas de la cápsida (Aboud *et al.*, 1982; Canivet *et al.*, 1983).

Después de haber analizado el presente trabajo, el lector puede preguntarse: ¿cuál es el mecanismo de acción antiviral del interferón? Es evidente que la respuesta aún está llena de suposiciones y especulaciones, a pesar de la gran cantidad de trabajos realizados. Es posible, inclusive, que en una misma célula funcionen mecanismos diferentes, según el virus, o que sobre un mismo virus actúen mecanismos diferentes, según el tejido de que se trate (Sen y Herz, 1983; Arnheiter y Haller, 1983). Pero además, en el animal entero funcionan mecanismos adicionales, donde pueden entrelazarse los distintos efectos del IFN para lograr la protección antiviral (Maheshwari *et al.*, 1983), todo lo cual debe tenerse en cuenta en el momento de la experimentación y del uso clínico del IFN.

REFERENCIAS

- ABOUD, M.; Y. HASSAN y M. HULEIHEL (1982). *Effect of interferon on Assembly of Intracellular Moloney Murine Leukemia Virus Particles in Chronically infected 3T3/NIH Cells*. Arch. Virol. **74**, 49.
- AGUET, M. (1980). *High-affinity binding of ¹²⁵I-labeled mouse interferon to a specific cell surface receptor*. Nature **284**, 459.
- AGUET, M.; F. BELARDELL; B. BLANCHARD; F. MARCUCCI e I. GRESSER (1982). *High affinity binding of ¹²⁵I-labeled mouse Interferon to a specific cell surface receptor. I. V. Mouse γ and cholera toxin do not compete for the common receptor site of α / β interferon*. Virology **117**, 541.
- AGUET, M. y B. BLANCHARD (1981). *High affinity binding of ¹²⁵I-labeled mouse interferon to a specific cell surface receptor. II Analysis of binding properties*. Virology **115**, 249.
- ALTON, K.; Y. STABINSKY; R. RICHARDS; B. FERGUSON; L. GOLDSTEIN; B. ALTROCK; L. MILLER y N. STEBBING (1983). *Production, characterization and Biological Effects of Recombinant DNA Derived Human IFN- α and IFN- γ Analogs en The Biology of the Interferon System 1983*. E. De Maeyer y H. Schellekens, Eds. Elsevier Science Publishers B. V. pp-119-128.
- ANDERSON, P.; B. TYCKO; F. MAXFIELD y J. VILČEK (1982)^a. *Effect of Primary Amines on Interferon Action*. Virology **117**, 510.
- ANDERSON, P.; Y. K. YIP y J. VILČEK (1982)^b. *Specific Binding of ¹²⁵I-Human Interferon- α to High Affinity Receptors on Human Fibroblasts*. J. Biol. Chem. **257**, 11303.
- ANKEL, H.; CH. KRISHNAMURTI; F. BESANÇON; S. STEFANOS y E. FALCOFF (1980). *Mouse fibroblast (type I) and immune (type II) interferons: Pronounced differences in affinity for gangliosides and in antiviral and antigrowth effects on mouse leukemia L-1210R cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **77**, 2528.

- ARNHEITER, H. y O. HALLER (1983). *MX Gene Control of Interferon Action: Different Kinetics of the Antiviral State Against Influenza Virus and Vesicular Stomatitis Virus*. J. Virol. **47**, 626.
- BAGLIONI, C. y P. A. MARONEY (1980). *Mechanism of action of human interferons. Induction of 2'-5'-oligo (A) polymerase*. J. Biol. Chem. **255**, 8390.
- BRANCA, A. A. y C. BAGLIONI (1981). *Evidence that types I and II interferons have different receptors*. Nature, **294**, 768.
- BRANCA, A. A.; C. R. FALTYNEK; S. B. D'ALESSANDRO y C. BAGLIONI (1982). *Interaction of Interferon with Cellular Receptors. Internalization and Degradation of Cell-Bound Interferon*. J. Biol. Chem. **257**, 13291.
- BRENNAN, M. B. y G. R. STARK (1983). *Interferon Pretreatment Inhibits Simian Virus 40 Infections by Blocking the onset of Early Transcription*. Cell **33**, 811.
- CANIVET, M.; C. JOUANNY; A. FOURCADE; J. LASNERET; A. RHODES-FEUILLETTE y J. PERIES (1983). *Effect of Human Interferon on Type D Retroviruses Multiplication in Chronically Infected Cell Lines*. J. Interferon Res. **3**, 53.
- CAYLEY, P. J.; M. KNIGHT e I. M. KERR (1982). *Virus mediated inhibition of the ppp (A2'p)_nA system and its prevention by interferon*. Biochem. Biophys. Res. Commun. **104**, 376.
- CLEMENS, M. J.; V. M. PAIN; S. T. WONG y E. C. HENSHAW (1982). *Phosphonyl-action inhibits guanine nucleotide exchange on eukaryotic initiation factor 2*. Nature **296**, 93.
- COLONNO, R. J. (1981). *Accumulation of newly synthesized m RNAs in response to human fibroblast () interferon*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **78**, 4763.
- COLONNO, R. J. y R. H. L. PANG (1982). *Induction of Unique m RNAs by Human Interferons*. J. Biol. Chem. **257**, 9234.
- CHEBATH, J.; G. MERLIN; R. METZ; P. BENECH y M. REVEL (1983). *Interferon-induced 56 000 Mr protein and its m RNA in human cells: molecular cloning and partial sequence of the c DNA*. Nucleic Acids Res. **11**, 1213.
- DAHLER, K. A. y C. E. SAMUEL (1981). *Mechanism of Interferon Action. Differential Effect of Interferon on the Synthesis of simian Virus 40 and Reovirus Polypeptides in Monkey Kidney cells*. Virology **117**, 379.
- EPPSTEIN, D. A.; C. W. CZARNIECHKI; H. HACOBSSEN; R. M. FRIEDMAN y A. PANET (1981). *A mouse cell line, which is unprotected by interferon against lytic virus infection, lacks ribonuclease F activity*. Eur. J. Biochem. **118**, 9.
- EPPSTEIN, D. A.; B. B. SCHRYVER; Y. V. MARSH; M. A. LARSEN y C. G. KURAHARA (1983). *Dephosphorylated Core of 2'-5' Oligoadenylate Exerts its Antimitogenic Effect through Mechanisms Different from the 2'-5'-A-Dependent Endonuclease*. J. Interferon Res. **3**, 305.
- EPPSTEIN, D. A.; P. F. TORRENCE y R. M. FRIEDMAN (1980). *Double stranded RNA inhibits a phosphoprotein phosphatase present in interferon treated cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **77**, 107.
- ETIENNE SMEKENS, M.; P. VANDERBUSSCHE; J. CONTENT y J. E. DUMONT (1983). *(2'-5') Oligoadenylate in rat liver: Modulation after partial hepatectomy*. Proc. Natl. Acad. Sci USA **80**, 4609.
- FELLOUS, M.; V. NIR; D. WALLACH; G. MERLIN; M. RUBINSTEIN y M. REVEL (1982). *Interferon dependent induction of m RNA for the major histocompatibility antigens in human fibroblasts and lymphoblastoid cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **79**, 3082.
- FLEISCHMANN, W. R. (1982). *Potentiation of the direct anticellular activity of mouse interferons: mutual synergism and interferon concentration dependance*. Cancer Res. **42**, 869.

- FLOYD-SMITH, G.; O. YOSHIE y P. LENGYEL (1982). *Interferon Action. Covalent Linkage of (2'-5') ppp ApApA (³²P)pCp to (2'-5') (A)_n - Dependent Ribonucleases in cell extracts by Ultraviolet Irradiation.* J. Biol. Chem., **257**, 8584.
- FRIEDMAN, R. M. (1979). *Interferons: Interactions with Cell Surfaces* en *Interferon 1*. Gresser, ed. Academic Press, New York, pp. 53-74.
- GOLGHER, R. R.; B. R. G. WILLIAMS; C. S. GILBERT; R. E. BROWN e I. M. KERR (1980). *Protein kinase activity and the natural occurrence of 2-5 A in interferon-treated EMC virus infected L-cells.* Ann. N. Y. Acad. Sci. **350**, 448.
- GORDON, J. y M. A. MINKS (1981). *The Interferon Renaissance: Molecular Aspects of Induction and Action.* Microbiol. Rev. **45**, 244.
- GUPTA, S. L. (1979). *Specific protein phosphorylation in interferon-treated uninfected and virus-infected mouse L 929 cells: enhancements by double-stranded RNA.* J. Virol. **29**, 301.
- GUSTAFSSON, A.; S. SUNSTRÖM, T. NY y E. LUNDGREN (1982). *Rapid Induction of Seven Proteins in Human Lymphocytes by Interferon; Correlation to Natural Killer Cell Activity.* J. Immunol. **129**, 1952.
- HANNIGAN, G. E.; D. R. GEWERT; E. N. FISH; S. E. READ y B. R. G. WILLIAMS (1983). *Differential Binding of Human Interferon alpha subtypes to Receptors on Lymphoblastoid cells.* Biochem. Biophys. Res. Commun. **110**, 537.
- HOLMES, S. L. y S. L. GUPTA (1982). *Interferon action in human fibroblasts: induction of 2', 5' - oligoadenylate synthetase in the absence of detectable protein kinase activity.* Arch. Virol. **72**, 137.
- HOVANESSIAN, A. G.; E. MEURS; O. AUJEAN; C. VAQUERO; S. STEFANOS y E. FALCOFF (1980). *Antiviral response and induction of specific proteins in cells treated with immune T (type II) interferon analogous to that from viral interferon (type I)-treated cells.* Virology **104**, 195.
- HOVANESSIAN, A. G.; E. MEURS y L. MONTAGNIER (1981). *Lack of systematic correlation between the interferon mediated antiviral state and the levels of 2-5 A synthetase and protein kinase in three different types of murine cells.* J. Interferon. Res. **1**, 179.
- HOVANESSIAN, A. G. y J. N. WOOD (1980). *Anticellular and antiviral effects of pppA (2'p5'A)_n.* Virology **101**, 81.
- HOVANESSIAN, A. G.; J. WOOD; E. MEURS y L. MONTAGNIER (1979). *Increased nuclease activity in cells treated with pppA2'p5'A2'p5'A.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **76**, 3261.
- HUEZ, G.; M. SILHOL y B. LEBLEU (1983). *Microinjected Interferon Does Not Promote on Antiviral Response in HeLa Cells.* Biochem. Biophys. Res. Commun. **110**, 155.
- JOSHI, A. R.; F. H. SARKAR y S. L. GUPTA (1982). *Interferon Receptors. Cross-Linking of Human leukocyte Interferon α -2 to its receptor on Human Cells.* J. Biol. Chem. **257**, 13884.
- KAEMPFER, R.; R. ISRAELI; H. ROSEN; S. KNOLLER; A. ZILBERSTEIN; A. SCHMIDT y M. REVEL (1979). *Reversal of the interferon-induced block of protein synthesis by purified preparations of eucaryotic initiation factor 2.* Virology **99**, 170.
- KUHRY, J. G.; P. POINDRON y G. LAUSTRIAT (1983). *Evidence for Early Fluidity Changes in the Plasma Membranes of Interferon treated L Cells, from fluorescence anisotropy data.* Biochem. Biophys. Res. Commun. **110**, 88.
- LEBLEU, B.; G. C. SEN; S. SHAILA; B. CABRER y P. LENGYEL (1976). *Interferon, double-stranded RNA, and protein phosphorylation.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **73**, 3107.
- LENGYEL, P. (1981). *Mechanisms of Interferon Action: The (2'-5') (A)_n Synthetase-RNase L Pathway en Interferon 3, 1981.* I. Gresser, ed. Acad. Press. pp. 78-99.

- LEWIS, J. A.; E. MENGHERI y M. ESTEBAN (1983). *Induction of an antiviral response by interferon requires thymidine kinase*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **80**, 26.
- MAHESHWARI, R. A.; M. M. HUSAIN; S. SERRATE; A. M. ATTALLAH y R. M. FRIEDMAN (1983). *The in vivo and in vitro antiviral effect (s) of interferons may be mediated through different mechanism (s)* en *The Biology of the Interferon System 1983*. E. De Maeyer y H. Schellekens, eds. Elsevier Science Publishers B. V. pp. 257-263.
- MARTIN, E. M.; N. J. M. BIRDSALL; R. E. BROWN e I. M. KERR (1979). *Enzymic synthesis, characterisation and nuclear-magnetic-resonance spectra of pppA2'p5'A2'p5'A and related oligonucleotides: comparison with chemically synthesised material*. Eur. J. Biochem. **95**, 295.
- MASTERS, P. S. y C. E. SAMUEL (1983)^a. *Mechanism of Interferon Action: Inhibition of Vesicular Stomatitis Virus Replication in Human Amnion U Cells by Cloned Human leukocyte Interferon. I. Effect on Early and Late Stages of the Viral Multiplication Cycle*. J. Biol. Chem. **258**, 12019.
- MASTERS, P. S. y C. E. SAMUEL (1983)^b. *Mechanism of Interferon Action: Inhibition of Vesicular Stomatitis Virus Replication in Human Amnion U Cells by Cloned Human leukocyte Interferon. II Effect on Viral Macromolecular Synthesis*. J. Biol. Chem. **258**, 12026.
- MERLIN, G.; J. CHEBATH; P. BENECH; R. METZ y M. REVEL (1983). *Molecular cloning and sequence of partial c DNA for interferon-induced (2'-5') oligo (A) synthetase m RNA from human cells*. Pnc. Natl. Acad. Sci. USA, **80**, 4904.
- MEURS, E.; A. G. HOVANESSIAN y L. MONTAGNIER (1981). *Interferon-mediated Antiviral State in Human MRC5 Cells in the Absence of Detectable levels of 2-5 A Synthetase and Protein Kinase*. J. Interferon Res. **1**, 219.
- MINKS, M. A.; D. K. WEST; S. BENVIN y C. BAGLIONI (1979). *Structural requirements of double-stranded RNA for the activation of 2'5'-oligo (A) polymerase and protein kinase of interferon-treated HeLa cells*. J. Biol. Chem. **254**, 10180.
- MOGENSEN, K. E.; M. T. BANDU; F. VIGNAUX; M. AGUET e I. GRESSER (1981). *Binding of ¹²⁵I-labeled human alpha interferon to human lymphoid cells*. Int. J. Cancer, **28**, 575.
- MUÑOZ, A. y L. CARRASCO (1983). *Effect of interferon treatment on blockade of protein synthesis induced by poliovirus infection*. Eur. J. Biochem. in press.
- MUÑOZ, A. y L. CARRASCO (1984). *Acción del Interferón linfoblastoide frente a la infección por virus Herpes Simplex tipo I*. Interferón y Biotecnología, **1**, en este número.
- MUÑOZ, A.; R. HARVEY y L. CARRASCO (1983). *Cellular RNA is not degraded in interferon-treated HeLa cells after poliovirus infection*. FEBS Lett. **160**, 87.
- NILSEN, T. W. y C. BAGLIONI (1979). *Mechanism for discrimination between viral and host mRNA in interferon treated cells*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **76**, 2600.
- NILSEN, T. W.; P. A. MARONEY y C. BAGLIONI (1981). *Double-stranded RNA causes synthesis of 2', 5'-oligo (A) and degradation of messenger RNA in interferon-treated cells*. J. Biol. Chem. **256**, 7806.
- NILSEN, T. W.; P. A. MARONEY; H. D. ROBERTSON y C. BAGLIONI (1982). *Heterogeneous nuclear RNA promotes synthesis of (2'-5') oligoadenylate and is cleaved by the (2'-5') oligoadenylate-activated endoribonuclease*. Mol. Cell Biol. **2**, 154.
- NILSEN, T. W.; D. L. WOOD y C. BAGLIONI (1980). *Virus-specific effects of interferon in embryonal carcinoma cells*. Nature, **286**, 178.
- OHTSUKI, K.; B. A. TORRES y H. M. JOHNSON (1982). *Characterization of Immune Type Interferon (IFN) Induced cytoplasmic Protein Kinasa Activity in Mouse L Cells*. Biochem. Biophys. Res. Commun. **104**, 422.

- PANET, A.; C. W. CZARNIECKI; H. FALK y R. M. FRIEDMAN (1981). *Effect of 2'-5'-oligoadenylic acid on a mouse cell line partially resistant to interferon*. *Virology* **114**, 567.
- PANET, A. y H. FALK (1983). *Inhibition by Interferon of Herpes Simplex Virus Thymidine Kinase and DNA Polymerase in Infected and Biochemically transformed Cells*. *J. Gen. Virol.* **64**, 1999.
- PESTKA, S.; B. KELDER; C. FAMILLETTI; J. A. MOSCHERA; R. CROW y S. KEMPNER (1983)^a. *Molecular Weight of the Functional Unit of Human Leukocyte, Fibroblast and Immune Interferons*. *J. Biol. Chem.* **258**, 9706.
- PESTKA, S.; B. KELDER; E. REHBERG; J. R. ORTALDO; R. B. HERBERMAN; E. S. KEMPNER; J. A. MOSCHERA y J. TARNOWSKI (1983)^b. *The Specific Molecular Activities of Interferons differ for Antiviral, Antiproliferative and Natural Killer Cell Activities* en *The Biology of the Interferon System 1983*. E. De Maeyer y H. Schellekens eds. Elsevier Science Publishers B. V. pp. 535-549.
- ROBERTS, W. K.; A. HOVANESSIAN; R. E. BROWN; M. J. CLEMENS e I. M. KERR (1976). *Interferon-mediated protein kinase and low-molecular-weight inhibitor of protein synthesis*. *Nature*, **264**, 477.
- ROCHETTE-EGLY, C. y M. G. TOVEY (1982). *Interferon enhances guanylate cyclase activity in human lymphoma cells*. *Biochem. Biophys. Res. Commun* **107**, 150.
- SAMANTA, H.; O. YOSHIE; H. SCHMIDT; G. St. LAURENT; G. FLOYD-SMITH; B. M. JAYARAM y P..LENGYEL (1983). *Interferons as Inducers of m RNA and Protein Synthesis* en *The Biology of the Interferon System 1983*. E. De Maeyer y H. Schellekens eds. Elsevier Science Publishers, B. V. pp. 239-244.
- SAMUEL, C. E. (1979). *Mechanism of interferon action: phosphorylation of protein synthesis initiation factor eIF-2 in interferon-treated human cells by a ribosome-associated kinase processing site specificity similar to hemin-regulated rabbit reticulocyte kinase*. *Proc. Natl. Acad. USA*, **76**, 600.
- SAMUEL, C. E. y G. S. KNUTSON (1982)^a. *Mechanism of Interferon Action Kinetics of Induction of the Antiviral State and Protein Phosphorylation in Mouse Fibroblasts treated with Natural and Cloned Interferons*. *J. Biol. Chem.* **257**, 11791.
- SAMUEL, C. E. y G. S. KNUTSON (1982)^b. *Mechanism of Interferon Action Kinetics of Decay of the Antiviral State and protein phosphorylation in Mouse fibroblasts treated with Natural and cloned Interferons*. *J. Biol. Chem.* **257**, 11796.
- SAMUEL, C. E.; G. S. KNUTSON y P. S. MASTERS (1982). *Mechanism of Interferon Action: Ability of Cloned Human Type-Alpha Interferons to Induce Protein Phosphorylation and Inhibit Virus Replication is Specified by the Host Cell rather than the Interferon Subspecies*. *J. Interferon Res.* **2**, 563.
- SCHNECK, J.; B. ROGER-ZISMAN; O. M. ROSEN y B. R. BLOOM (1982). *Genetic analysis of the role of CAMP in mediating effects of interferon*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **79**, 1879.
- SEKAR, V.; V. J. ATMAR; M. KRIM y G. D. KUEHN (1982). *Interferon induction of polyamine-dependent protein kinase activity in Ehrlich ascites tumor cells*. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **106**, 305.
- SEN, G. C. y R. E. HERZ (1983). *Differential antiviral effects of Interferon in three murine cell lines*. *J. Virol.* **45**, 1017.
- SHULMAN, L. y M. REVEL (1980). *Interferon-dependent induction of m RNA activity for (2'-5') oligoisoadenylate synthetase*. *Nature*, **288**, 98.

- SIEKIERKA, J.; L. MAUSER y S. OCHOA (1982). *Mechanism of polypeptide chain initiation in eukaryotes and its control by phosphorylation of the α subunit of initiation factor 2*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, **79**, 2537.
- SLATTERY, E.; N. GHOSH; H. SAMANTA y P. LENGYEL (1979). *Interferon, double-stranded RNA, and RNA degradation: activation of an endonuclease by (2'-5') A_n* . Proc. Natl. Acad. Sci. USA **76**, 4778.
- STEWART II, W. E. (1979). *The Interferon System*. Springer Verlag Wien, New York, pp. 1-421.
- STREULI, M.; A. HALL, W. BOLL; W. E. STEWART II; S. NAGATA y C. WEISSMANN (1981). *Target cell specificity of two species of human interferon α produced in Escherichia coli and of hybrid molecules derived from them*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **78**, 2848.
- TAN, Y. H.; J. TISCHFIELD y F. H. RUDDLE (1974). *Human chromosome 21 dosage: effect on the expression of the interferon induced antiviral state*. Science **186**, 61.
- TAYLOR-PAPADIMITRIOU, J.; D. A. KYRIAKIDES; M. SHEARER; A. KORTSARIS y E. ROZENGURT (1983). *Multiple biologic effects of Interferon en The Biology of the Interferon System 1983*. E. De Maeyer y H. Schellekens, eds., pp. 267-279. Elsevier Science Publishers B. V.
- WECK, P. K.; S. APPERSON; L. MAY y N. STEBBING (1981). *Comparison of the antiviral activities of various cloned human Interferon- α subtypes in mammalian cell cultures*. J. Gen. Virol. **57**, 233.
- WHITAKER-DOWLING, P. A.; D. K. WILCOX; C. C. WIDNELL y J. S. YOUNGNER (1983). *Interferon-mediated inhibition of virus penetration*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA **80**, 1083.
- WILLIAMS, B. R. G. (1983). *Biochemical actions en Interferon and Cancer*. K. Sikora ed. Plenum. Publishing Corporation, pp. 33-52.
- WILLIAMS, B. R. G.; R. R. GOLGHER; R. E. BROWN; C. S. GILBERT e I. M. KERR (1979). *Natural occurrence of 2-5A in Interferon-treated EMC virus-infected L cells*. Nature **282**, 582.
- WILLIAMS, B. R. G. e I. M. KERR (1978). *Inhibition of protein synthesis by 2'-5' linked adenine oligonucleotides in intact cells*. Nature, **276**, 88.
- WILLIAMS, B. R. G. e I. M. KERR (1980). *The 2-5A (ppp $A^{2'}$ p^{5'} $A^{2'}$ p^{5'} A) system in interferon-treated and control cells*. Trends Biochem. Sci. **5**, 138.
- WOOD, J. N. y A. G. HOVANESSIAN (1979). *Interferon enhances 2-5A synthetase in embryonal carcinoma cells*. Nature, **282**, 74.
- WRESCHNER, D. H.; J. W. MCCAULEY; J. J. SKEHEL e I. M. KERR (1981). *Interferon action-sequence specificity of the ppp(A2'p)_n-dependent ribonuclease*. Nature **289**, 414.
- YONEHARA, S. (1982). *Radioactive human lymphoblastoid interferon: One-step purification, regulation of heterogeneous species production, and its use for radioimmunoassay*. Eur. J. Biochem. **125**, 529.
- YONEHARA, S.; M. YONEHARA-TAKAHASHI e A. ISHÛ (1983)^a. *Binding of human Interferon alpha to cells of different sensitivities: Studies with internally radiolabeled Interferon retaining full biological activity*. J. Virol. **45**, 1168.
- YONEHARA, S.; M. YONEHARA-TAKAHASHI; A. ISHÛ y S. NAGATA (1983)^b. *Different binding of human interferon α 1 and α 2 to common receptors on human and bovine cells*. J. Biol. Chem. **258**, 9046.