

## Tratamiento local con interferón (leucocitario) alfa humano en la conjuntivitis hemorrágica epidémica

M. LIMONTA<sup>1</sup>, J. ALEMAÑY<sup>2</sup>, O. PELAEZ<sup>2</sup>, P. LOPEZ-SAURA<sup>1</sup>, A. AGUILERA<sup>1</sup>, P. MAS<sup>3</sup>, M. A. PASCUAL<sup>4</sup>, F. CASCAR<sup>5</sup>, E. SELMAN-HOUSSEIN<sup>1</sup>

- 1) Centro Nacional de Investigaciones Biológicas, La Habana, Cuba
- 2) Grupo Nacional de Oftalmología, La Habana, Cuba
- 3) Instituto Nacional de Higiene, La Habana, Cuba
- 4) Grupo de Estadística, Ministerio de Salud Pública, La Habana, Cuba
- 5) Centro de Computación aplicado a la medicina, La Habana, Cuba

### RESUMEN

La conjuntivitis hemorrágica epidémica es una infección viral muy contagiosa. Desde 1969 se ha reportado en Africa, la India, Inglaterra y países asiáticos. En el Hemisferio Occidental se reportó por primera vez en agosto de 1981. En Cuba se reportó en septiembre de 1981 producida por el Enterovirus 70.

Se utilizó el interferón alfa semipurificado producido en el Centro de Investigaciones Biológicas en Ciudad de La Habana (actividad específica  $1-1.5 \cdot 10^6$  U.I./mg de proteína). Un grupo de 150 casos se ingresó en las primeras 24 horas de la enfermedad en una unidad especial de oftalmología y se trató durante tres días. Se seleccionaron tres grupos de 50 casos para un estudio estrictamente al azar. Dos grupos recibieron colirios de interferón,  $5 \cdot 10^5$  y  $2.5 \cdot 10^5$  U.I. IFN/ml respectivamente (dos gotas en cada ojo cada 4 horas). El tercer grupo recibió una solución placebo. Fue posible encontrar mejoría significativa ( $p < 0,05$ ) en el edema parpebral, inyección ciliar, blefaroespasmos, fotofobia y adenopatía preauricular en el grupo que recibió mayores dosis de interferón en comparación con el grupo de control.

### SUMMARY

Epidemic haemorrhagic conjunctivitis is a highly contagious virus infection. Since 1969 it has been reported in Africa, India, England and Asian countries, in Western hemisphere since August 1981. In Cuba it was reported in September 1981 produced by Enterovirus 70.

Semipurified alpha IFN produced in National Center for IFN Research in Havana (specific activity  $1-1.5 \cdot 10^6$  U.I./mg protein) was used. A group of 150 cases was admitted the first 24 hours of disease in a special eye-unit and treated during three days, three groups of 50 cases were selected in a strictly randomized study, two groups received IFN

drops  $5 \cdot 10^5$  and  $2.5 \cdot 10^5$  I.U. IFN/ml, respectively (two drops in both eyes every 4 hours), the third group received a placebo. It was possible to find significant improvement ( $p < 0,05$ ) in eyelid oedema, ciliary injection, blepharospasm, photophobia and preauricular adenopathy in the group receiving IFN higher doses in comparison with the control group.

## INTRODUCCION

La conjuntivitis hemorrágica aguda (CHA) es una infección viral con frecuentes brotes epidémicos. Las enfermedades oculares epidémicas virales como la CHA son reconocidas como muy contagiosas y de rápida diseminación entre los colectivos como escuelas y fábricas. Ha sido reportada desde 1969 en países asiáticos y africanos (Chatterjee, S. *et al.*, 1970; Jones, B. R., 1972; Chomel, J. J. *et al.*, 1973; Kono, R. *et al.*, 1975; Maichuk, Y. K. 1975), y también se han reportado pequeños brotes en otros países como Inglaterra (Jones, B. R., 1972), Francia (Chomel, J. J. *et al.*, 1973) y la URSS (Maichuk, Y. K., 1975). En el hemisferio occidental se reportó por primera vez en agosto de 1981 y en Cuba, desde septiembre del mismo año.

La CHA tiene un período corto de incubación (Chatterjee, S. *et al.*, 1970; Sasagawa, A. *et al.*, 1976) y una evolución por lo general de 7 días caracterizada por edema parpebral, congestión vascular conjuntival, hemorragia subconjuntival y frecuentemente adenopatía preauricular de 1 a 5 días después de la infección (Chatterjee, S. *et al.*, 1970).

El interferón se ha aplicado como medicamento profiláctico en modelos experimentales de animales, como en la queratitis por virus herpes simplex (Cantell, K. *et al.*, 1960; McGill, J. I. *et al.*, 1976; Neumann-Haefelin, D. *et al.*, 1977) y queratitis por vaccinia (Kaufman, H. E. *et al.*, 1972; Neumann-Haefelin, D. *et al.*, 1975). En el hombre, se ha aplicado en enfermedades como la queratitis dendrítica en modelos experimentales profilácticos (Kaufman, H. E. *et al.*, 1976); Sundmacher, R. *et al.*, 1978; Pazin, G. J. *et al.*, 1979) y terapéuticos (Sundmacher, R. *et al.*, 1976), así como en la queratoconjuntivitis por adenovirus (Romano, A. *et al.*, 1980; Negro, Y. *et al.*, 1980).

En este trabajo reportamos el uso del interferón leucocitario tópico en una prueba aplicada a 100 casos seleccionados al azar durante un brote CHA producido por enterovirus 70 con el objetivo de estudiar la reacción de este virus al interferón leucocitario humano en un modelo *in vivo* y en gran escala.

## MATERIALES Y METODOS

**Interferón:** Interferón leucocitario humano semipurificado, producido en el Centro de Investigaciones Biológicas en Ciudad de La Habana, a partir del procedimiento ortodoxo de Cantell (Cantell, K. Hirvonen, S., 1981; Cantell, K. *et al.*, 1981a; Cantell, K. *et al.*, 1981b) con una actividad específica de  $1-1.5 \cdot 10^6$  U.I./mg de proteína. Se prepararon dos colirios: con 500 000 y 250 000 U.I./ml disuelto en PBS con 0,01% de timerosal. Se preparó un tercer colirio con la solución PBS y timerosal solamente.

**Pacientes:** 150 pacientes de ambos sexos con edades entre 15 y 65 años fueron seleccionados estrictamente al azar y distribuidos en tres grupos de 50 casos y tratados cada uno con los colirios descritos anteriormente. Todos los casos provenían de Ciudad de La Habana y

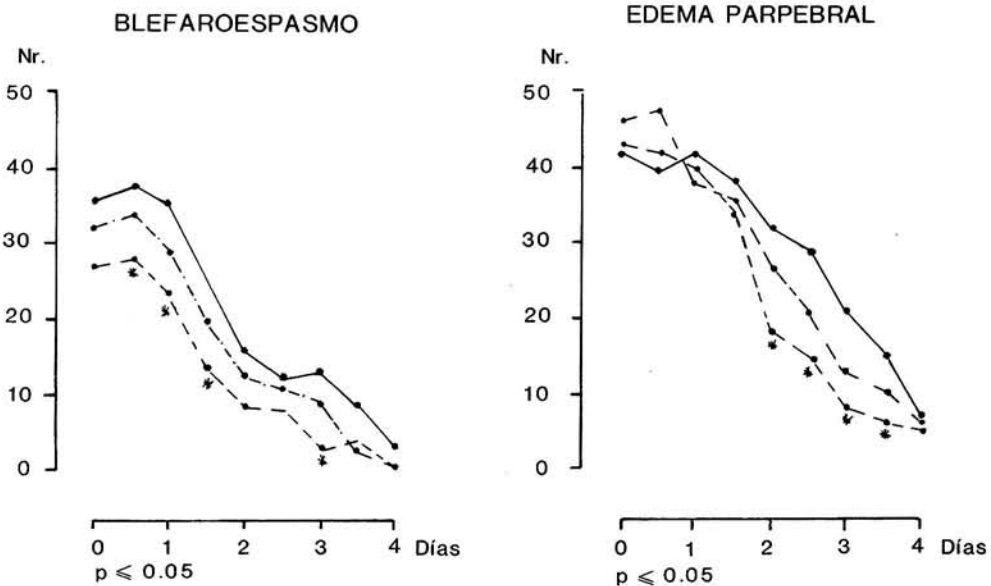
fueron ingresados desde el primer día de aparición de los síntomas. Se utilizó una unidad especial preparada para este estudio. Los pacientes de los tres grupos fueron tratados simultáneamente por el mismo personal, que no conocía en qué grupo estaba cada paciente. El estudio tuvo una duración de tres semanas, desde el 21 de septiembre hasta el 10 de octubre de 1981.

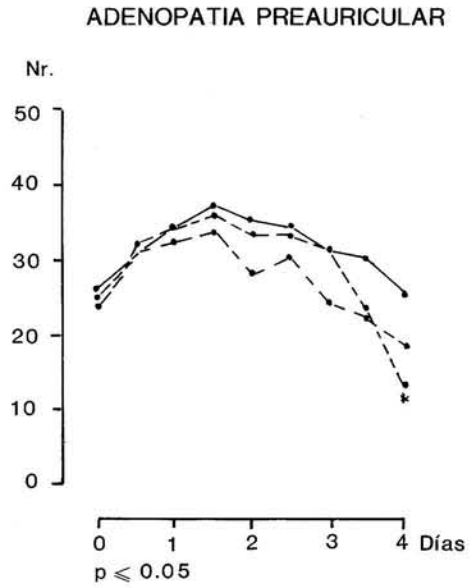
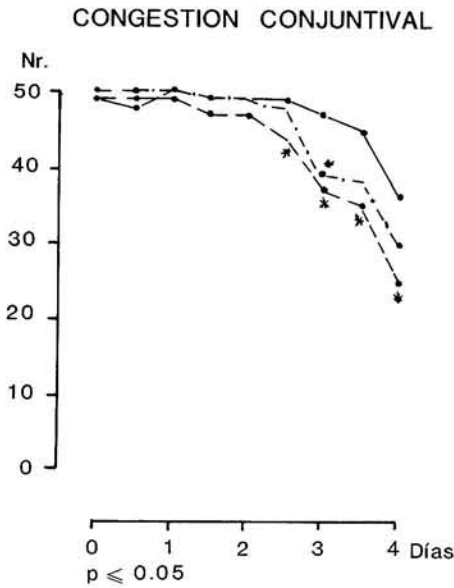
Tratamiento y seguimiento: Cada paciente recibió dos gotas del colirio correspondiente cada cuatro horas en ambos ojos, durante tres días, así como tratamiento sintomático general. La evolución de los casos se registró cada 12 horas. Los síntomas y signos estudiados fueron: edema parpebral, congestión conjuntival, hemorragia subconjuntival, inyección ciliar, adenopatía preauricular y blefaroespasma. Cada 12 horas se evaluó la presencia o la ausencia de estos síntomas y signos.

Procedimiento estadístico: Las diferencias de proporciones de pacientes que tenían cada síntoma en cada momento, fueron evaluadas utilizando una prueba de significación de diferencias entre muestras de gran tamaño (Spiegel, M. R., 1966).

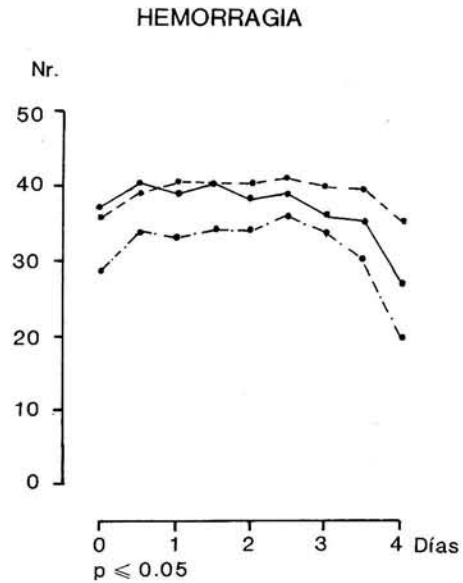
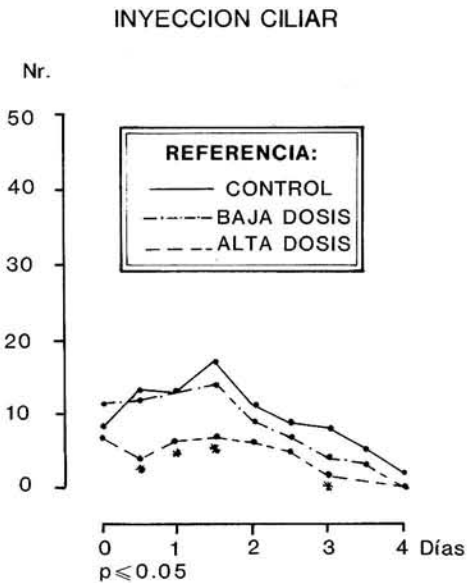
## RESULTADOS

En la figura 1 se pueden ver los resultados. El número de pacientes en los cuales los síntomas persistieron fue significativamente menor en el grupo que recibió la dosis más alta de interferón, en comparación con el grupo de control, de manera que en el blefaroespasma fue significativo desde las 12 horas posteriores al comienzo del tratamiento, el edema parpebral después de las 48 horas, la congestión conjuntival después de las 60 horas y la adenopatía preauricular después de 4 horas. La inyección ciliar se hizo significativa al principio (12 horas), pero en el caso del grupo de más alta dosis este síntoma se previno en comparación con el grupo control en el cual apareció en la mayoría de los pacientes 36 horas posterior al ingreso.





**\* PUNTOS DE SIGNIFICACION**



No existieron diferencias significativas con respecto a la hemorragia subconjuntival, ya que la mayoría de los casos (80%) ya tenía este signo en el momento de su ingreso y no fue posible seguir su desarrollo a causa del tiempo tan corto de este estudio. En el grupo que recibió la dosis más baja de interferón, los resultados siempre estuvieron entre los grupos de control y el de más alta dosis, sin observarse diferencias significativas con los otros grupos.

## DISCUSION

La actividad del interferon contra los virus principales responsables de CHA ha sido probada *in vitro* por Stanton *et al.* (Stanton, G. J. y Langford, M. P. 1977).

Nuestro trabajo que ofrece como modelo experimental al hombre, en la mayoría de los casos mostró un efecto positivo de la terapia con interferón para mejorar la evolución clínica de la CHA. La congestión conjuntival, el edema parpebral y el blefaroespasma desaparecieron más rápidamente en pacientes que recibieron 12 gotas de  $5 \cdot 10^5$  U.I. de interferón por ml en colirio, diariamente, durante tres días. Además, la adenopatía preauricular disminuyó durante el cuarto día de evolución y también se logró una probable prevención del desarrollo de la inyección ciliar en el grupo de dosis más alta.

La comparación de los grupos de control con los dos grupos tratados con interferón mostró una diferencia significativa con el grupo de alta dosis, y el grupo de baja dosis ofreció resultados siempre entre el grupo de control y el de más alta dosis. Por lo tanto, podemos suponer que probablemente en este tipo específico de conjuntivitis viral hemorrágica debido al Enterovirus 70, la concentración más baja que se necesita para alcanzar los resultados utilizando este esquema de tratamiento es, aproximadamente,  $5 \cdot 10^5$  U. I. de interferón/ml. De todas formas se considera que este esquema de tratamiento, utilizando interferón seis veces al día, no es el más apropiado, teniendo en cuenta que se ha demostrado que la reacción depende de la concentración de interferón y no de la frecuencia con que el producto es suministrado durante el día (Neumann-Haefelin, D. *et al.*, 1975). Nuestros resultados indican que el interferón leucocitario es una droga que debe estudiarse más profundamente en las enfermedades virales como la CHA, considerando sus posibles efectos positivos y además la baja dosis que se necesita para cada paciente ( $1 \cdot 10^6$  unidades por paciente en tres días), que sería compatible con el uso masivo en este tipo de enfermedad epidémica de los ojos.

## REFERENCIAS

- CANTELL, K. y V. TOMMILA (1960). *Lancet II*, 682-684.
- CANTELL, K. y S. HIRVONEN (1981). En: *Methods in Enzymology*. Vol. 78. Interferon Pestka, S. ed. Academic Press, New York, pp. 299-301.
- CANTELL, K.; S. HIRVONEN; H. KAUPPINEN y G. MYLLYLÄ (1981). *In Methods in Enzymology*. Vol. 78, Pestka, S. ed. Academic Press, New York, pp. 29-38.
- CANTELL, K.; S. HIRVONEN y V. KOINSTINEN (1981). En: *Methods in Enzymology*. Vol. 78, S. Pestka, ed. Academic Press. New York, pp. 499-504.
- CHATTERJEE, S.; G. O. QUARCOOPOME y A. APENTENG (1970). *Brit. J. Ophthalmol.*, 54, 628-630
- CHOMEL, J. J.; O. G. GAUDIN; S. NEJMI y R. SOHIER (1973). *Nouv. Presse Med.*, 2, 1781-1783.
- JONES, B. R. (1972): *Trans. Ophthalmol. Soc. (UK)* 92, 625-627.
- KAUFMAN, H. E.; E. D. ELLISON y Y. M. CANTIFANTO (1972). *Amer. J. Ophthal.*, 74, 89-92.
- KAUFMAN, H. E.; R. MEYER; P. LAIBSON; S. WALTMAN; A. NESBURN y J. J. SHUSTER (1976). *J. Infect. Dis. (Suppl)* 133, A165-168.
- KONO, R.; A. SASAGAWA, K. MIYAMURA y E. TAJIRI (1975). *Amer. J. Epidemiol.*, 101 5, 444-457.

- MAICHUK, Y. K. (1975). *In Revue Internationale du Trachome*, 52 (1-2), 107-122.
- McGILL, J. I.; P. COLLINS; K. CANTELL; B. R. JONES y N. B. FINTER (1976). *J. Infect. Dis. (Suppl)*. 133, A13-17.
- NEGORO, Y.; J. IMANISHI; A. MATSUO y T. KISHIDA (1980). *Jap. J. Ophthal.*, 24, 125-127.
- NEUMANN-HAEFELIN, D.; R. SUNDMACHER; B. SAUTER; H. E. KARGES y K. F. MANTHEY (1975). *Infect. Immun.* 11, 148-155.
- NEUMANN-HAEFELIN, D.; R. SUNDMACHER; R. SKODA y K. CANTELL (1977). *Infect. Immun.* 17, 468-470.
- PAZIN, G. J.; J. A. ARMSTRONG; M. T. LAM; G. C. TARR; P. J. JANNETTA y M. HO (1979). *New Engl. J. Med.*, 301, 225-230.
- ROMANO, A.; M. REVEL; D. GUARARI-ROTMAN; M. BLUMENTHAL y R. STEIN (1980). *J. Interferon Res.*, 1, 95-100.
- SASAGAWA, A.; R. KONO y K. KONNO (1976). *Japn. J. Med. Sci. Biol.*, 29, 95-97.
- SPIEGEL, M. R. (1966). *Theory and problems of statistics*. Ediciones Revolucionarias. La Habana.
- STANTON, G. J. y M. P. LANGFORD (1977). *Texas reports on Biology and Medicine*. 35, 501-510.
- SUNDMACHER, R.; K. CANTELL; P. HAUG y D. NEUMANN-HAEFELIN (1978). *Ber. Dtsch. Ophthal. Ges.* 75, 344-346.
- SUNDMACHER, R.; D. NEUMANN-HAEFELIN; K. F. MANTHEY y O. MÜLLER (1976). *J. Infect. Dis. (Suppl)* 133, A160-164

(1) Trabajo presentado en el III Congreso Internacional de Investigaciones en Interferón Miami, Estados Unidos, noviembre 1-3, 1982.