



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Alternativas de los procesos productivos del interferón alfa humano recombinante y su relevancia en la aplicación clínica.

Troya Mora, Lorena Karina

Departamento de Ciencias de la Vida y de la Agricultura

Carrera de Ingeniería en Biotecnología

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniera en Biotecnología

Ramos Gómez, Thelvia Isabel PhD c

13 de septiembre del 2021



Document Information

Analyzed document	Tabajo_Titulación-Troya_Lorena-DOCUMENTOURKUND.docx (D112512322)
Submitted	9/13/2021 8:48:00 PM
Submitted by	Nelson Vispo
Submitter email	nvispo@yachaytech.edu.ec
Similarity	4%
Analysis address	nvispo.yachay@analysis.orkund.com

Sources included in the report

W	URL: https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/23023/1/T-ESPE-044022.pdf Fetched: 5/13/2021 6:36:37 AM	 3
W	URL: https://1library.co/document/q51wpewy-eventos-adversos-problemas-relacionados-medicamentos-interferones-reportados-bogota.html Fetched: 4/26/2021 7:02:30 AM	 16
W	URL: https://drjesusemezab.blogspot.com/2016/01/virus-sincial_16.html Fetched: 10/10/2020 11:37:35 PM	 1
W	URL: https://es.wikipedia.org/wiki/Interfer%C3%B3n Fetched: 1/17/2020 3:12:49 AM	 2
W	URL: https://es.m.wikipedia.org/wiki/Interfer%C3%B3n Fetched: 11/4/2020 4:15:42 AM	 1
W	URL: https://www.ecured.cu/Interferon_Gamma Fetched: 5/28/2020 4:05:07 AM	 1
W	URL: https://www.cecmecmed.cu/sites/default/files/adjuntos/rcp/biologicos/rcp_heberon_alfa_solucion_2014-01-06.pdf Fetched: 6/12/2020 9:29:51 PM	 1

THELVIA
ISABEL
RAMOS
GOMEZ

Firmado
digitalmente por
THELVIA ISABEL
RAMOS GOMEZ
Fecha: 2021.09.13
14:06:50 -05'00'



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Certificación

Certifico que el trabajo de titulación, “Alternativas de los procesos productivos del interferón alfa humano recombinante y su relevancia en la aplicación clínica” fue realizado por la señorita Troya Mora Lorena Karina el mismo que fue revisado en su totalidad, analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Sangolquí, 12 de septiembre de 2021

THELVIA ISABEL RAMOS GÓMEZ
Firmado digitalmente por
THELVIA ISABEL RAMOS GÓMEZ
Fecha: 2021.09.13 14:06:13
-05'00'

Dra. Ramos Gómez Thelvia Isabel, PhD. (c)

C.C 1753960028



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Responsabilidad de Autoría

Yo, Troya Mora Lorena Karina, con cédula de identidad 1723433437, declaro que el contenido, ideas y criterio del trabajo de titulación **“Alternativas de los procesos productivos del interferón alfa humano recombinante y su relevancia en la aplicación clínica”** es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Sangolquí, 13 de septiembre 2021

Troya Mora Lorena Karina

C.C. 1723433437



DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo **Troya Mora Lorena Karina**, con cédula de ciudadanía n° 1723433437 autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: “**Alternativas de los procesos productivos del interferón alfa humano recombinante y su relevancia en la aplicación clínica**” en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Sangolquí, 13 de septiembre 2021

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Troya Mora Lorena Karina', is positioned above the printed name.

Troya Mora Lorena Karina

C.C.: 1723433437

Dedicatoria

A mis padres quienes con su amor, paciencia y esfuerzo me han permitido llegar a cumplir hoy un sueño más.

A mi hermano por su cariño y apoyo incondicional, durante todo este proceso, por estar conmigo en todo momento.

A toda mi familia porque con sus oraciones, consejos y apoyo hicieron de mí una mejor persona y estén donde estén me acompañan en todos mis sueños y metas.

Finalmente, a todos mis amigos, por apoyarme cuando los necesito, por extender su mano en momentos difíciles y por el aprecio que me brindan cada día.

Lorena Karina Troya Mora

Agradecimientos

Al finalizar este trabajo quiero utilizar este espacio para agradecer a Dios por todas sus bendiciones, a mis Padres que han sabido darme su ejemplo de trabajo y honradez y a mi familia por su apoyo y paciencia.

También quiero agradecer a la Universidad de las Fuerzas Armadas "ESPE", por haberme permitido ser parte de esta gran casa de estudio. Por compartir dificultades, retos, grandes momentos y alegrías inolvidables.

Mis agradecimientos a la Dra. Thelvia Ramos, por acogerme primero como su tesista y por su aporte en mi desarrollo profesional y en mi formación como ingeniera.

Índice de contenido

Resultado del análisis de Urkund	2
Certificación.....	3
Responsabilidad de autoría.....	4
Autorización de publicación.....	5
Dedicatoria	6
Agradecimientos.....	7
Índice de contenido.....	8
Índice de tabla	11
Índice de figuras	12
Lista de Abreviaturas.....	13
Resumen.....	15
Palabras clave.....	15
Abstract	16
Key words	16
Capítulo I: Introducción.....	17
Planteamiento del Problema	17
Justificación del Problema.....	19
Objetivos	22
<i>Objetivo general del proyecto</i>	22
<i>Objetivos específicos</i>	22
Capítulo II: Marco Teórico.....	23
Breve revisión histórica	23
<i>Tipos de interferones</i>	25
Interferones Tipo I.....	25
Interferones Tipo II.....	27
Interferones tipo III.....	28
<i>Interferón alfa</i>	31
<i>Tipos de IFN-α humano recombinante</i>	33
Interferón alfa 2a y 2b.	33
Interferones alfa pegilados.	34
<i>Farmacocinética del IFN-α</i>	34
<i>Aplicaciones</i>	36
<i>Producción proteínas recombinantes</i>	37
<i>Producción de IFN humano recombinante a gran escala</i>	40

<i>Ensayos clínicos realizados</i>	45
Capítulo III: Revisión Metodológica.....	48
Categorización de la información.....	51
Ensamblaje de la información.....	52
Análisis.....	53
Softwares Utilizados.....	53
<i>Mendeley</i>	53
<i>RStudio</i>	54
Capítulo IV: Resultados y discusión.....	55
Sistemas de producción.....	55
Producción en bacterias.....	56
<i>Producción en E. coli</i>	56
<i>Limitaciones de la producción en E. coli</i>	59
Otros sistemas de expresión.....	59
<i>Producción en Trichoderma reesei</i>	59
Limitaciones de la producción en <i>Trichoderma reesei</i>	61
<i>Producción en Yarrowia lipolytica</i>	61
Limitaciones de la producción en <i>Yarrowia lipolytica</i>	62
<i>Producción en Pichia pastoris</i>	62
Limitaciones de la producción en <i>Pichia pastoris</i>	63
Producción en células de mamíferos.....	63
<i>Producción en células de mieloma murino</i>	63
Limitaciones de la producción en células de mieloma murino.....	64
<i>Producción a partir de células linfoblastoides y leucocitos humanos</i>	65
Limitaciones de la producción a partir de células linfoblastoides y leucocitos humanos.....	67
Producción en sistemas libres de células.....	67
<i>Limitaciones de la producción en sistemas libres de células</i>	68
<i>Glicosilación dentro de los procesos de producción</i>	68
<i>Comparación entre los diferentes métodos de producción</i>	71
Actividad Antiviral.....	72
Actividad antiproliferativa.....	75
Eficacia clínica del IFN- α y su aplicación fármaco terapéutico.....	78
Efectos secundarios del uso de IFN- α	82
Interacción con otros fármacos.....	83

Capítulo V: Conclusiones	88
Capítulo VI: Recomendaciones	89
Capítulo VII: Bibliografía	90

Índice de tabla

Tabla 1. <i>Características principales de los interferones humanos existentes</i>	30
Tabla 2. <i>Preparaciones de IFN-α terapéuticos disponibles.</i>	40
Tabla 3. <i>Cepas de E. coli disponibles comercialmente para la producción de IFN-α y sus características.</i>	43
Tabla 4. <i>Fuentes de artículos y palabras de búsqueda utilizados en la investigación.</i>	49
Tabla 5. <i>Matriz de datos de la investigación.</i>	50
Tabla 6. <i>Categorías para la organización de los documentos obtenidos.</i>	52
Tabla 7. <i>Diseño del protocolo de una revisión sistemática exploratoria.</i>	53
Tabla 8. <i>Sistemas de expresión utilizados para la producción de IFN-α humano recombinantes en Escherichia coli.</i>	57
Tabla 9. <i>Ventajas y desventajas de los diferentes sistemas de expresión de IFN-α recombinante.</i>	71
Tabla 10. <i>Formulaciones de IFN-α existentes y su sistema de producción.</i>	79
Tabla 11. <i>Eficacia del tratamiento con IFN-α humano dentro de varias enfermedades.</i>	80
Tabla 12. <i>Efectos secundarios reportados por formulación de interferón.</i>	84

Índice de figuras

Figura 1. <i>Cinética de las respuestas inmunitarias innata y adaptativa</i>	26
Figura 2. <i>Receptores de IFN y señalización</i>	30
Figura 3. <i>Secuencia de aminoácidos del IFN-α2b humano.</i>	33
Figura 4. <i>Estructura del vector de expresión Pet-22b (+).</i>	39
Figura 5. <i>Esquema del proceso de producción y posterior purificación de los Interferones.</i>	45

Lista de Abreviaturas

AA	Aminoácidos
Ac	Anticuerpos
APC	Células presentadoras de antígenos
CCRM	Carcinoma metastásico de células renales
EMA	Agencia Europea de Medicamentos
FDA	Administración de Medicamentos y Alimentos
FL	Linfoma folicular
GAS	Secuencia activada por IFN-gamma
GFP	Proteína verde fluorescente
H	Horas
HBC	Hepatitis B crónica
HBV	Virus de la hepatitis B
HCC	Hepatitis C crónica
HCV	Virus de la hepatitis C
HLA	Antígenos de histocompatibilidad
IFN	Interferón
IFN-α	Interferón alfa
IFN-α2a	IFN alfa 2 ^a
IFN-α2b	IFN alfa 2b
IFN-γ	IFN gamma
IFNAR	Receptor de IFN alfa
IFNGR	Receptor de IFN gamma
IFNLR	Receptor de IFN lambda
IFN-λ1	Receptor 1 de IFN lambda
IL-10Rβ	Receptor β de interleucina-10
IL	Interleucina
IRF	Factor regulador de IFN
ISGF3	factor 3 del gen estimulado por IFN
ISRE	Elementos de respuesta estimulados por IFN
JAK	Janus Quinasa
KDa	Kilo Dalton

L	Litros
MDE	Episodios depresivos mayores
LNH	Linfoma no Hodgkin
MHC	Complejo mayor de histocompatibilidad
mL	Mililitros
PDC	Células dendríticas plasmocitoides
PEG	Polietilenglicol
PEG-IFN	Peginterferón
RSE	Revisión Sistemática Exploratoria
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
STAT	Transductor de señales y activador de la transcripción
TGA	Administración de productos terapéuticos
TNF	Factor de necrosis tumoral
Treg	Células T reguladoras
TYK2	Tirosina quinasa 2
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
VL	Vasculitis leucocitoclástica

Resumen

Los interferones (IFNs), son una familia de citoquinas que actúan dentro de la activación y regulación de la respuesta inmune innata y adaptativa. El IFN- α pertenece a los IFN tipo I y posee múltiples aplicaciones terapéuticas en el tratamiento de diversas enfermedades debido a su actividad antiviral, antiproliferativa e inmunorreguladora. La interrupción del tratamiento con IFN- α se da en al menos el 45% de los pacientes, a pesar de que su acción sea la esperada ya que el uso continuo del fármaco tiene como consecuencia efectos secundarios que varían desde náuseas y fatiga a secuelas psiquiátricas. Se han realizado modificaciones a los sistemas de producción de los interferones, así como el desarrollo de nuevas formulaciones con mejoramiento en el escalado productivo con el fin de disminuir la toxicidad sin modificar la eficacia, abaratar costos y lograr un mayor tiempo de permanencia en el organismo. El presente estudio tiene como objetivo analizar el estado actual de los sistemas de producción del IFN- α humano recombinante y establecer la relación entre su aplicación clínica y la presencia de efectos secundarios. La búsqueda de información se realizó utilizando bases de datos digitales seleccionadas para este propósito. Los resultados señalaron a Google Scholar como la base de datos más relevantes de donde extraer información. Se mostró que la bacteria *E. coli* es el sistema hospedero de preferencia para la producción de este fármaco ya que crecer de forma rápida, tiene bajos costos de mantenimiento y se la considera segura para la producción a gran escala a pesar de las desventajas que pueden presentarse, como formación de cuerpos de inclusión y pérdidas de proteína activa. También se señaló que existen formulaciones como la creación de dendrímeros o nanopartículas con IFN- α , que mejorarían la eficiencia del fármaco y disminuirían la respuesta inmune del organismo en contra de este. Se concluyó que los fármacos producidos en células de mamíferos como leucocitos humanos o células linfoblastoides ofrecerá un mejor producto final, disminuyendo la variedad e incidencia de los efectos secundarios.

Palabras clave

- INTERFERÓN
- PRODUCCIÓN
- EFECTO SECUNDARIO

Abstract

Interferons (IFNs) are a family of important cytokines in the activation and regulation of the innate and adaptive immune response. IFN- α belongs to the type I IFNs and has multiple therapeutic applications in the treatment of various diseases due to its antiviral, antiproliferative and immunoregulatory activity. Discontinuation of IFN- α treatment occurs in at least 45% of patients, despite its action being as expected, since continued use of the drug results in adverse effects ranging from nausea and fatigue to psychiatric sequelae. Modifications have been made to the interferon production systems, as well as the development of new formulations with improvements in the production scale in order to reduce toxicity without modifying efficacy, reduce costs and achieve a longer permanence time in the organism. The present study aims to analyze the current status of recombinant human IFN- α production systems and to establish the relationship between its clinical application and the presence of side effects. The search for information was performed using digital databases selected for this purpose. The results pointed to Google Scholar as the most relevant database from which to extract information. It was shown that *E. coli* bacteria is the preferred host system for the production of this drug since it grows rapidly, has low maintenance costs and is considered safe for large-scale production despite the disadvantages that may occur, such as formation of inclusion bodies and loss of active protein. It was also pointed out that there are formulations such as the creation of dendrimers or nanoparticles with IFN- α , which would improve the efficiency of the drug and decrease the body's immune response against it. It was concluded that drugs produced in cells of higher organisms such as human leukocytes or lymphoblastoid cells will offer a better final product, decreasing the variety and incidence of side effects.

Key words

- **INTERFERON**
- **PRODUCTION**
- **SIDE EFFECTS**

Capítulo I: Introducción

Planteamiento del Problema

Los interferones son moléculas producidas por células del sistema inmune, que se generan durante las primeras fases de una infección (Ramos-Bello & Ramos-Niembro, 2008). Después de su descubrimiento en 1957 y la importancia de este suceso se ha llegado a comparar al descubrimiento de los antibióticos, ya que poseen actividad antiproliferativa (IFN Tipo I), antiviral (IFN Tipo I y III), e inmunorreguladora (IFN Tipo I y II). El estudio de su capacidad para actuar como un posible compuesto terapéutico ha generado interés para la industria farmacéutica (J Aronson, 2016; González et al., 2017; Marín-Sánchez et al., 2019; Schaber et al., 1994; Zhang, 2017).

Los interferones se han vuelto líderes del mercado en la terapia contra enfermedades como cáncer, tuberculosis, hepatitis, enfermedad granulomatosa crónica, osteopetrosis, entre otras además de jugar un papel importante en la presentación de antígenos y aumento en la expresión de moléculas coestimuladoras. (Couture et al., 2019; Liechtenstein et al., 2012; Miller et al., 2009; Overall et al., 2017). El tratamiento de estas afecciones tema de gran importancia económica a nivel mundial, por esto, el producir esta molécula a escala industrial, de forma rápida, eficiente y con costos bajos ha sido siempre un tema de interés (JK Aronson, 2016; Baron et al., 1991; El-Baky & Redwan, 2015; Kartal et al., 2007). El desarrollo de las aplicaciones clínicas del IFN sufrió un retraso debido a métodos ineficientes de producción, ya que, durante varios años los investigadores solo pudieron verificar la existencia y función de la molécula, pero no obtener cantidades suficientes para realizar investigaciones más exhaustivas (El-Baky & Redwan, 2015).

A mediados de la década de 1970, se logró disponer de cantidades suficientes de IFN- α humano para llevar a cabo diversas investigaciones. Este se obtuvo de preparaciones purificadas a partir de leucocitos, con el fin de realizar experimentos en la

prevención de resfriado común y el tratamiento de infecciones por virus (Cantell et al., 1981; El-Baky & Redwan, 2015; Friedman, 2008; Lesage et al., 2021). Después de 29 años de su descubrimiento, el desarrollo de la ingeniería genética permitió la producción de grandes cantidades de IFNs con alto nivel de pureza, lo que abrió paso tanto a su aplicación en entornos clínicos como a la investigación de sus propiedades, marcando el comienzo de una nueva era para estas citoquinas (Borden et al., 2007). Gracias a la posibilidad de producir IFNs en grandes cantidades, los estudios de investigación se centraron en el proceso de inducción de IFNs y las subsiguientes vías de señalización intracelular, los mecanismos de defensa celular y la capacidad de los virus y las células tumorales para evadir la respuesta a los interferones (El-Baky & Redwan, 2015; McNab et al., 2015; Zadeh et al., 2019).

La producción de esta proteína se realiza en una variedad de sistemas de expresión con factibilidad económica y fácil multiplicación en sus requerimientos por lo cual se han desarrollado varios protocolos (El-Baky & Redwan, 2015; Lara, 2011). Sin embargo, la aplicación clínica utilizando diversos sistemas de expresión han provocado que se presenten en los individuos efectos secundarios que van desde ligeras molestias similares a una infección viral hasta sintomatologías más complejas, ya sea por diferencias sutiles de la molécula al provenir de organismos distintos o al grado de pureza del producto, causando pérdidas económicas, lo que genera interés para la industria farmacéutica (Pestka et al., 2004; Sleijfer et al., 2005).

Justificación del Problema

Antes del desarrollo de la tecnología de ADN recombinante para la síntesis de proteínas en diversos tipos de células, solo se disponía de cantidades limitadas de IFNs (Ishii & Tang, 2014). El interferón alfa (IFN- α), por ejemplo, se produce de forma natural en las células dendríticas plasmocitoides (PDC) a razón de 10^9 moléculas de IFN por célula en las 24h siguientes a la activación, una cantidad muy baja en comparación a requerimientos industriales (JK Aronson, 2016; Mendelsohn & Gray, 2014).

La producción de proteínas recombinantes solubles y funcionales es uno de los principales objetivos en el campo biotecnológico, ya que con esto podemos obtener proteínas terapéuticas que pueden utilizarse como agentes terapéuticos, vacunas y reactivos de diagnóstico para el tratamiento de enfermedades a gran escala en millones de personas (Freudl, 2018; Kunert & Reinhart, 2016; Tripathi & Shrivastava, 2019). Se han sugerido estrategias para desarrollar esta nueva tecnología a nivel industrial (Billiau et al., 1977). Gracias a los sistemas de producción a gran escala de los interferones se han logrado obtener hasta $1,9 \times 10^5$ a $1,3 \times 10^6$ unidades de IFN- α por cada 15 mL de extracto bacteriano en el que se produce (Edge et al., 2013).

Para la producción de proteínas se toma en cuenta características que sistema hospedero debe cumplir como: las células deben tener una vida útil finita en cultivo, requerimientos de producción económicos, ser cepas con niveles de producción más altos en comparación con sus semejantes, y que no liberen compuestos que sean perjudiciales para el ser humano (Billiau et al., 1977; Geng et al., 2004; Katla & Sivaprakasam, 2019; Sinskey et al., 1981). Es importante señalar que en condiciones de estrés térmico u oxidativo, hipoxia o falta de nutrientes en el medio, la maquinaria de producción puede saturarse promoviendo un mal plegado de la molécula y, en consecuencia, su mal funcionamiento (Burnett & Burnett, 2020; García-Fruitós, 2015; Peebo & Neubauer, 2018).

Las características y funcionalidad de la proteína de interés determinan los parámetros de selección del organismo hospedero y las condiciones de crecimiento para su producción con el fin de minimizar la formación de proteínas insolubles (Ferrer-Miralles et al., 2015; Kunert & Reinhart, 2016).

Dependiendo del método de producción se presentan diferentes limitaciones, ya sea el costo, la complejidad de la molécula, los requerimientos celulares o la necesidad de numerosos procesos de purificación, debido a esto se pueden presentar diversos eventos adversos y puede haber variación sobre su efectividad clínica y la dosis necesaria para su aplicación (S. K. Gupta & Shukla, 2017; Oliver Ingold et al., 2016; Yoo et al., 2018). El uso de métodos recombinantes para la generación de proteínas sigue siendo el mejor enfoque para la producción industrial debido a la demanda cada vez mayor, ya sea cualitativa o cuantitativa, en donde se toman en cuenta aspectos como la productividad, la bioactividad, el propósito y las características fisicoquímicas de la molécula de interés (Burnett & Burnett, 2020; R. Chen, 2012; Gomes et al., 2016; Yuan He et al., 2014; Owczarek et al., 2019). También se han considerado nuevas estrategias terapéuticas con IFN- α para obtener productos superiores en cuanto al tiempo de vida media circulatoria, como la pegilación (Milton Harris et al., 2001). Proceso que se basa en la conjugación bioquímica de moléculas bioactivas con polietilenglicol (PEG) para aumentar la persistencia de una proteína en el cuerpo humano sin afectar el perfil de actividad original (V. Gupta et al., 2019; Pfister et al., 2016).

Debido a las limitaciones mencionadas, efectos secundarios y corto tiempo de vida en el organismo, se presenta el constante desafío de mejorar y optimizar los sistemas de expresión existentes, y también de desarrollar enfoques novedosos para hacer frente a las demandas de producción de proteínas complejas (fosfoproteínas y glicoproteínas), así como el incremento de la pureza del biofármaco dentro del escalado productivo (Burnett &

Burnett, 2020; R. Chen, 2012; Gomes et al., 2016; Yuan He et al., 2014; Owczarek et al., 2019). El IFN- α tiene potencial tanto industrial como farmacéutico, por esta razón el análisis bibliográfico y la comparación de los métodos de producción aportará conocimientos sobre los beneficios e impedimentos de cada proceso y sobre sus efectos en la salud de los que lo consumen, además de las posibilidades de mejorar o modificar un proceso para evitar los efectos desfavorables que estos puedan presentar.

Objetivos

Objetivo general del proyecto

Describir los tipos de procesos productivos que se han utilizado para la obtención del interferón alfa humano recombinante y su relevancia en la aplicación clínica.

Objetivos específicos

Establecer los diferentes procesos productivos que se han utilizado para la obtención del interferón alfa humano recombinante.

Relacionar los procesos productivos a escala industrial para la obtención del interferón alfa humano recombinante contra los efectos toxicológicos descritos para estos fármacos.

Capítulo II: Marco Teórico

Breve revisión histórica

Los interferones (IFNs) son una gran familia de citoquinas relacionadas identificadas por primera vez por su capacidad para conferir resistencia a las infecciones virales (Chevaliez et al., 2009). Estas moléculas son componentes del sistema inmunológico y brindan una protección rápida contra una amplia variedad de patógenos invasores (Nicholson, 2016). Los IFNs son glicoproteínas naturales producidas por las células de la mayoría de los vertebrados en respuesta al desafío de agentes extraños, como organismos infecciosos como virus, bacterias, hongos y parásitos y por células tumorales. Estas glicoproteínas pueden ser producidas por células del sistema inmunes innatos y adaptativos y por células no inmunes como los fibroblastos y células epiteliales (Chevaliez et al., 2009; García-García et al., 2016; Skinner, 2018).

En 1957, Isaacs y Lindenmann, mientras estudiaban los fenómenos de respuesta entre virus y células hospederas, notaron por primera vez un efecto de interferencia causado por un material bioactivo, aislado de cultivos de células de pollo infectadas con el virus de la influenza (Aamir et al., 2008; El-Baky & Redwan, 2015). Este descubrimiento se dio por un proceso de incubación de células de embrión de pollo en un medio de cultivo con virus de la influenza inactivado, en el que se observó que las células liberaban al medio un producto desconocido que, cuando se añadía a células frescas de embriones de pollo, quedaban protegidas en su totalidad contra la infección (El-Baky & Redwan, 2015; Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, 2001; Sotoca, 1999). Isaacs y Lindenmann asignaron el término "interferón" para describir a este compuesto y, más adelante, varios informes demostraron que las células somáticas de diferentes especies animales, incluidos los humanos, eran capaces de producir IFNs, eficaces contra múltiples tipos de virus (El-Baky & Redwan, 2015). Este descubrimiento despertó el interés de la

comunidad científica, que comenzó a interesarse por la nueva molécula (Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires, 2001). Se realizaron varias investigaciones y se descubrió que los IFNs no eran una sustancia única, sino que se trataba de hecho de una familia de proteínas sintetizadas por células eucariotas (M. M. H. Li et al., 2015; J. López, 2015). Estas citoquinas reciben su nombre debido a su capacidad para interferir en la replicación de los virus en las células hospedadoras ya que se unen a receptores en la superficie de las células infectadas, activando diferentes vías de señalización en las que participan diversas proteínas antivirales (como la PKR), para impedir la replicación de una amplia variedad de virus de ARN y ADN (El-Baky & Redwan, 2015; J. López, 2015).

Los IFNs ejercen acciones auto y paracrinas en respuesta a una infección viral (Chevaliez et al., 2009). Estimulan las redes intracelulares e intercelulares para regular tanto la inmunidad innata como la adquirida, la resistencia a las infecciones virales, la supervivencia y la muerte de las células normales y tumorales (Skinner, 2018). A través de receptores de superficie celular de alta afinidad, estimulan genes empleando moléculas de señalización también utilizadas en parte por otras citoquinas identificadas por primera vez a través de estudios de IFNs (Clemens, 2003; Fensterl et al., 2015; Mendelsohn & Gray, 2014; Skinner & Jegou, 2018).

El descubrimiento de las propiedades esenciales de los IFNs: antivírica, antiproliferativa e inmunorreguladora, produjo un enorme interés por su posible aplicación clínica (J Bekisz et al., 2010). Los IFNs, ha sido sujeto de numerosos ensayos clínicos y ha probado su eficacia en diversos estudios sobre tumores así como en ciertas infecciones virales (J Bekisz et al., 2010; Fresno, 2018; García-Sesma, 2017). El primero en ser aprobado como inmunoterapia contra el cáncer por la FDA en 1986 fue el IFN- α (Mulvey, 2015). Más de veinte genes y proteínas de IFNs han sido identificados en animales, entre

ellos humanos, que han sido clasificados en tres tipos: Tipo I, Tipo II y tipo III (Chevaliez et al., 2009; Ferreira et al., 2019; Sekulic et al., 2012).

Tipos de interferones

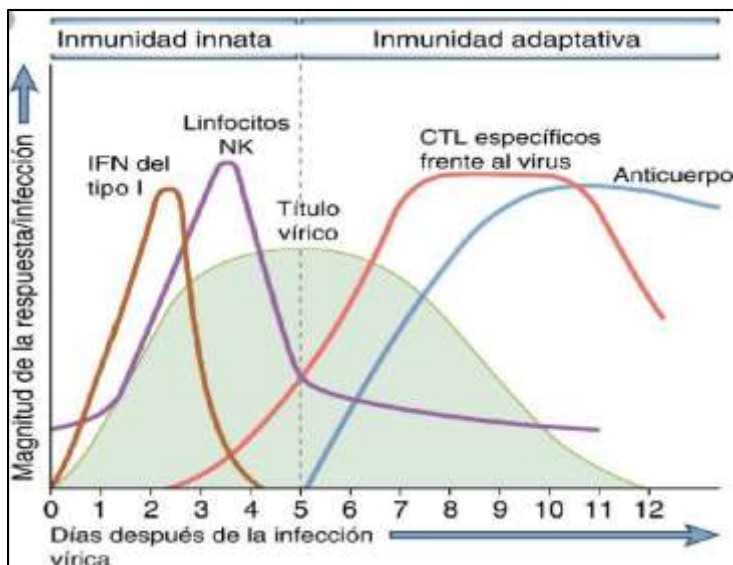
Interferones Tipo I.

Los interferones de tipo I son polipéptidos secretados por células que han sido infectadas y tienen tres funciones principales: primero, inducen estados antimicrobianos intrínsecos en las células infectadas y vecinas que limitan la propagación del agente infeccioso. Segundo, modulan las respuestas inmunitarias innatas y promueve la presentación de antígenos y las funciones de las células asesinas naturales (NK) al tiempo que restringen la condición proinflamatoria y la producción de citoquinas (**Figura 1**). Tercero activan el sistema inmunológico adaptativo, promoviendo el desarrollo de células T y B específicas con antígenos de alta afinidad y con memoria inmunológica (Ivashkiv & Donlin, 2014; Page et al., 2000; Trinchieri, 2010).

Los interferones de tipo I tienen un aproximado de 20 subtipos: IFN- α , IFN- β , IFN- ξ , IFN- κ , IFN- τ , IFN- ζ e IFN- ω . El IFN- α posee alrededor de 13 subtipos diferentes denominados IFN- α 1, - α 2, - α 4, - α 5, - α 6, - α 7, - α 8, - α 10, - α 13, - α 14, - α 16, - α 17 y - α 21 mientras que del IFN- β se conocen solo dos subtipos IFN- β 1, - β 3 (Ferreira et al., 2019; Malmgaard, 2004; Page et al., 2000; Yoon & Won, 2021). La mayoría de los mamíferos placentarios son capaces de codificar los genes funcionales IFN- ϵ y IFN- κ , solo los rumiantes y cerdos codifican IFN- τ y IFN- ζ de forma respectiva, sin tener sus homólogos en humanos (Lenis et al., 2010; Nallar & Kalvakolanu, 2014; Nardelli et al., 2002).

Figura 1.

Cinética de las respuestas inmunitarias innata y adaptativa



Nota. Representación de respuesta inmune innata y adaptativa frente a un virus. Obtenido de Inmunología celular y molecular (p.349) por (Abbas et al., 2015).

Hay 17 genes de IFNs de tipo I humanos, todos agrupados en el cromosoma 9, estos no tienen intrones y codifican secuencias de péptidos con señal secretoria que son escindidos de forma proteolítica antes de la secreción de la célula (Chevaliez et al., 2009). Los IFNs de tipo I están muy relacionados de forma genética y estructural entre ellos; varían en longitud de 161 a 208 aminoácidos y tienen aparentes pesos moleculares de 15-24 kDa (J. Chen et al., 2004; Marín-Sánchez et al., 2020). Los diferentes subtipos de IFN- α humano tienen un aproximado de 50% de identidad de secuencia de aminoácidos, mientras que El IFN- α comparte alrededor del 22% de identidad de aminoácidos con el IFN- β humano y el 37% con IFN- ω humano (Borden et al., 2007; Chevaliez et al., 2009; Marocci & Rocchi, 2004; Page et al., 2000). Estas moléculas pueden inducir una variedad de efectos biológicos sobre otras células como: la activación y diferenciación de células B, células T y DC (Encalada-García, 2017).

La ruta de señalización se inicia tras la unión con el receptor de IFN, IFNAR, este receptor es un complejo receptor que consta de 2 proteínas de transmembrana, que junto a la unión con 2 tirosina-quinasa citoplasmáticas, Janus quinasa (JAK 1) y tirosina quinasa (TYK2), permite la fosforilación de las proteínas transductoras de señal y activadoras de transcripción (STAT 1 y 2). Sumado a ello, el factor de regulación de interferón (IRF) forma en conjunto el llamado complejo del factor de transcripción ISGF3 (factor 3 del gen estimulado por IFN), este se une a secuencias específicas de nucleótidos llamadas elementos de respuesta estimulados por IFN (ISREs) en los promotores de ciertos genes, conocidos como genes estimulados por IFN (ISGs). Por último, se estimula en el núcleo, a los factores genéticos para la formación de nuevos IFNs como se puede apreciar en la **Figura 2** (Abbas et al., 2015; Aillot et al., 2018; Del Rosario & García, 2001; Encalada-García, 2017; Marín-Sánchez et al., 2019).

Los ISGs actúan en diferentes etapas del ciclo de vida viral, desde la entrada y la replicación hasta el ensamblaje y la liberación (Wong & Chen, 2014). Para infectar productivamente al huésped y multiplicarse, los virus utilizan la maquinaria de traducción del huésped para producir proteínas virales (Embarc-Buh et al., 2021). La inhibición traslacional es un mecanismo común utilizado por los ISG para mediar los efectos antivirales (Platanitis et al., 2019). Algunos de los ISG mejor estudiados son: la proteína quinasa RNA activada (PKR), la 2'-5'-oligoadenilato sintetasa (OAS) y la RNAsa Latente (RNAsa L) que funcionan para bloquear la traducción y limitar la replicación del virus (Feng et al., 2018; M. M. H. Li et al., 2015).

Interferones Tipo II.

Solo hay un IFN de tipo II conocido, IFN- γ , descubierto en 1965, este es producido de forma exclusiva por células inmunes, como las células T derivadas del timo activadas y las células asesinas naturales (NK). La producción de esta molécula en el organismo se da

después de la estimulación por antígenos extraños o mitógenos en las primeras etapas de la respuesta inmunitaria innata (Boehm et al., 1997; Green et al., 2017). La principal acción de este tipo de IFN consiste en actuar como una linfocina, es decir, como una molécula capaz de activar otras células del sistema inmune, como son las células NK, los macrófagos, y los linfocitos B. Este puede influir sobre la clase de anticuerpo que es producido por los linfocitos B en el marco de una respuesta inmune (Instituto Latinoamericano de Comunicación Educativa, 2006; Tang et al., 2018). El IFN- γ es un homodímero no covalente compuesto por dos cadenas polipeptídicas idénticas de 17 kDa de 166 residuos de longitud cuyo gen se mapea en el cromosoma 12. La secuencia señal hidrófoba de 23 residuos se elimina mediante escisión proteolítica antes de la secreción de la célula (Boehm et al., 1997; Chevaliez et al., 2009; Green et al., 2017).

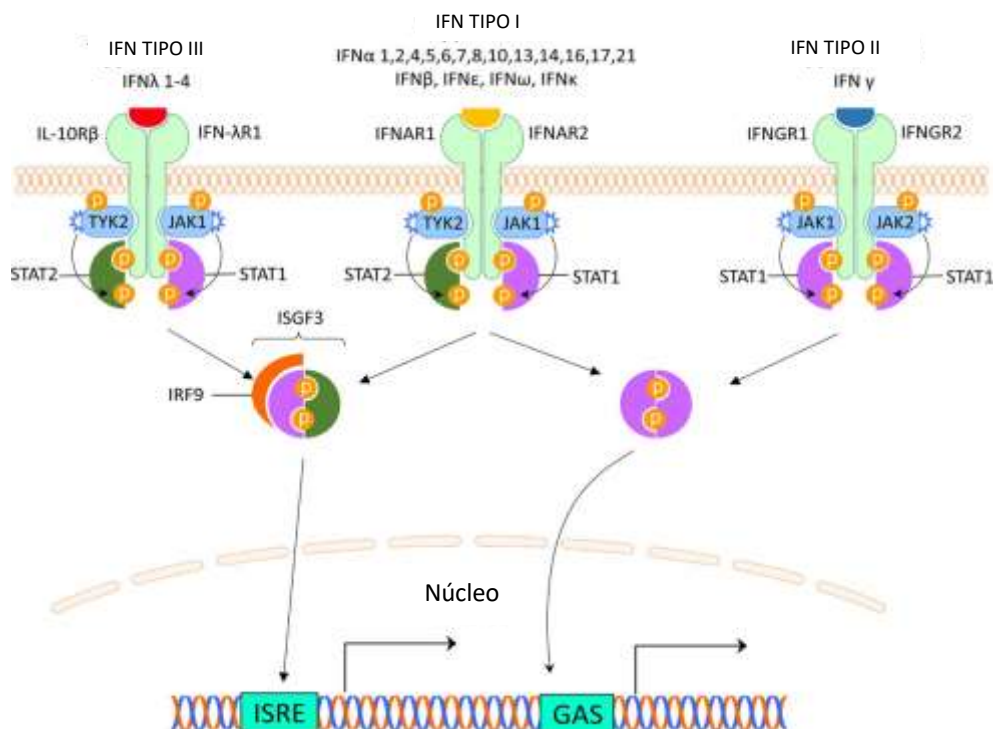
La ruta de señalización se inicia tras la unión con el receptor de IFN, IFNGR, este receptor es un complejo que consta de 4 proteínas transmembrana, a diferencia del complejo anterior que constaba de 2, que junto a la unión con 2 tirosina-quinazas citoplasmáticas, Janus quinasa 1 y 2 (JAK 1/2) permite la fosforilación de la proteína transductora de señal y activadoras de transcripción STAT 1. El complejo formado, se une a secuencias específicas de nucleótidos llamadas secuencia activada por IFN-gamma (GAS) lo que, por último, estimula en el núcleo, a los factores genéticos para la formación de nuevos IFNs (Abbas et al., 2015; Del Rosario & García, 2001; Encalada-García, 2017; Marín-Sánchez et al., 2019), este proceso puede ser apreciado en la **Figura 2**.

Interferones tipo III.

En los últimos años se ha identificado una nueva clase de IFNs humanos de tipo III, denominada IFN- λ 1 o IL-29, IFN- λ 2 (IL-28A) e IFN- λ 3 (IL-28B) (Dumoutier et al., 2003). El IFN- λ regula la diferenciación de las células dendríticas (DC) de los monocitos a través de

la configuración del complejo receptor de IFN- λ y la estimulación a través de este receptor induce de forma específica la proliferación de células T reguladoras (Treg), lo que resulta en la generación de DC tolerogénicas que puede suprimir las funciones de IFNs (Mennechet & Uzé, 2006; Zhou et al., 2018). Sin embargo, aunque se ha descrito que esta molécula tiene un mecanismo de acción similar a los IFNs de tipo I, se ha vuelto cada vez más claro que los de tipo III también tienen funciones distintas (Hemann et al., 2017; Page et al., 2000). A diferencia de los de tipo I, cuyo receptor se expresa de forma ubicua, los de tipo III se producen en gran medida en las células de las superficies epiteliales de barrera, como los tractos respiratorio y gastrointestinal, así como en la barrera hematoencefálica (Hemann et al., 2017; Schijns, 2017; Syedbasha & Egli, 2017).

Los IFNs de tipo III, se describieron por primera vez mediante predicciones computacionales de acuerdo con datos genómicos (Kotenko et al., 2003). Los tres genes de IFN- λ se agrupan en el cromosoma humano 19 y comprenden 5 exones para IFN- λ 1 y 6 para IFN- λ 2 e IFN- λ 3; estos codifican proteínas monoméricas secretadas de 20 a 22 kDa de 196 a 200 aminoácidos (Chevaliez et al., 2009; Marcocci & Rocchi, 2004). La ruta de señalización de este tipo de IFN es muy similar a la ruta del tipo I, pero en este caso los receptores son: el receptor 1 de IFN lambda (IFN- λ R1) y el receptor β de interleucina-10 (IL-10R β). Estos receptores forman el complejo IFNLR, este se une con 2 tirosina-quinazas citoplasmáticas, Janus quinasa 1 (JAK 1) y tirosina quinasa (TYK2), lo que permite una vez más la fosforilación de las STAT 1 y 2; donde al añadir el IRF, forman el complejo del factor de transcripción ISGF3, que se une a secuencias de nucleótidos que estimulan a los factores genéticos en el núcleo, para la formación de IFNs (Abbas et al., 2015; Del Rosario & García, 2001; Encalada-García, 2017; Marín-Sánchez et al., 2019), todo este proceso se puede apreciar de una forma detallada en la **Figura 2**.

Figura 2.*Receptores de IFN y señalización*

Nota. Receptores de IFN y señalización. Los interferones se clasifican en tres tipos, que se unen a distintos receptores. Esto induce la activación de vías superpuestas que dan como resultado la expresión de diferentes genes. Obtenido de: SLE: one key to unlocking the mystery of the disease Lupus (Rönnblom & Leonard, 2019).

Se presenta la **Tabla 1** en donde se pueden ver de forma resumida las características principales de los IFNs humanos mencionados.

Tabla 1.*Características principales de los interferones humanos existentes*

Característica	N° aminoácidos	Células productoras	Principal actividad	
Tipo I	IFN-α	165-166	Células hematopoyéticas (leucocitos), PDC, macrófagos	Actividad antiviral, antiproliferativa y antitumoral.

Característica	N° aminoácidos	Células productoras	Principal actividad	
IFN-β	166	Fibroblastos y células epiteliales	Actividad antiviral y antiproliferativa	
IFN-κ	207	Queratinocitos	Inhibe la replicación viral	
IFN-ω	172	Células hematopoyéticas (leucocitos)	Actividad antiviral, antiproliferativa y antitumoral.	
Tipo II	IFN-γ	143	Células inmunitarias (células T y células NK)	Actividad inmunorreguladora superior, acción antitumoral
Tipo III	IFN-λ1 IFN-λ2/3	196-200	células epiteliales, hepatocitos, melanocitos y células neuronales	respuesta inmune antiviral en las superficies epiteliales en las primeras etapas de la infección

Nota. Elaborado en base a: (Abbas et al., 2015; J Aronson, 2016; Chevaliez et al., 2009; González et al., 2017; Yongquan He et al., 2020; Ishii & Tang, 2014; S. fang Li et al., 2017; Marín-Sánchez et al., 2020; Quintero & Ruiz, 2018; Schijns, 2017; Zhou et al., 2018).

Interferón alfa

El IFN-α humano fue el primero en ser descubierto (Pelaz et al., 2017). Está representado por una familia de proteínas homólogas, que están codificadas por 13 genes sin intrones agrupados en el cromosoma 9, mientras que el genoma del IFN-α murino está compuesto por 14 genes ubicados en el cromosoma 4 (Gibbert et al., 2013; Schijns, 2017; Taylor, 2014). Estos comparten una estructura de α hélice con, un aproximado de un 80% de 166 aminoácidos, conservados (Cha et al., 2014; Chapman et al., 1991; Ramos-Bello & Ramos-Niembro, 2008).

Esta citoquina es producida por el sistema inmunológico que posee propiedades antivíricas, antiproliferativas e inmunomoduladoras (Avendaño Solà, 2006). Este IFN tiene más de 20 subtipos diferentes ya que, las tecnologías de recombinación de ADN han agregado más diversidad a las variantes naturales ya existentes. Se han creado nuevas moléculas de IFNs recombinantes a partir varios segmentos de las secuencias parentales, así como los procesos de conjugación a los que se lo somete (El-Baky & Redwan, 2015; Ramón et al., 2009).

El IFN- α posee un efecto inmunomodulador, que incluye la estimulación de la actividad lítica de las células NK, células T citotóxicas específicas y de macrófagos sobre células tumorales, la modificación de producción de Ac por linfocitos B y la regulación de antígenos de histocompatibilidad (HLA) en las membranas celulares (Battcock et al., 2020; Leyva et al., 2017; Medrano et al., 2017). La acción directa antitumoral incluye efectos antiproliferativos, y la unión de antígenos de superficies sobre la célula tumoral, mientras que la acción indirecta, activación del macrófago, células T, células NK y modulación de la producción de anticuerpos (Battcock et al., 2020; Moredo et al., 2004).

Esta molécula se ha explorado debido a su eficacia en diversas enfermedades y se utiliza como tratamiento estándar en varias de ellas como: el tratamiento de la leucemia de células pilosas (Bohn et al., 2016), melanoma maligno (Lens & Dawes, 2016), linfoma folicular (Cox et al., 2018), sarcoma de Kaposi causado por el SIDA (Hernández & Comegna, 2017), ciertos tipos de verrugas genitales (Yuan et al., 2018), en el tratamiento de la hepatitis B o C crónica en los adultos (Chalasani et al., 2015) y para la hepatitis B crónica en los niños de al menos 1 año (Muir et al., 2014; Yoo et al., 2018). Sin embargo, su uso va acompañado de una amplia variedad de posibles efectos secundarios que pueden dificultar el alcance y el mantenimiento de la dosis necesaria para un efecto terapéutico máximo superando el beneficio clínico del tratamiento (El-Baky & Redwan, 2015; Sleijfer et

al., 2005). Se han obtenido diferentes formas de IFN- α para el tratamiento de ciertas enfermedades, incluidos IFN- α 2a e IFN- α 2b (Chevaliez et al., 2009). Se espera que estos híbridos de IFNs recombinantes con propiedades novedosas tengan aplicaciones terapéuticas potenciales (Blatt et al., 1996).

Tipos de IFN- α humano recombinante

Interferón alfa 2a y 2b.

Estos dos IFNs difieren por un único aminoácido, el 2a con una lisina en la posición 23 mientras que el 2b posee una arginina en esta posición. Son glicoproteínas constan de 166 aminoácidos con treonina O-glicosilada en la posición 106 (**Figura 3**) (Ningrum & Asmana Ningrum, 2014). Estas proteínas se producen mediante tecnología de ADN recombinante y se asemejan al secretado por los leucocitos. Se utilizan ampliamente como agente antivírico o antineoplásico (JK Aronson, 2016; Dafny & Lincoln, 2016; Ningrum & Asmana Ningrum, 2014).

Figura 3.

Secuencia de aminoácidos del IFN- α 2b humano.

M₂₃ALTFALLVALLVLSCKSSCSVGC₁DLPQTHSLGSR
 RTLMLLAQMRRISLFSC₂₉LKDRHDFGFPQEFGNQF
 QKAETIPVLHEMIQQIFNLFSTKDSSAAWDETLDDKF
 YTELYQQLNDLEAC₉₈VIQGVGVT₁₀₆ETPLMKEDSILA
 VRKYFQRITLYLKEKKYSPC₁₃₈AWEVVRAEIMRSFSL
 STNLQESLRSKE₁₆₅

Nota: El péptido-sígnal está subrayado. Los dos puentes disulfuro intramoleculares son C1-C98 y C29-C138. La treonina ligada a glicanos se encuentra en la posición 106 (Thr106). Recordar que el IFN- α 2 tiene una lisina en la posición 23. Obtenido de Stable high volumetric production of glycosylated human recombinant IFNalpha2b in HEK293 cells (Loignon et al., 2008).

Interferones alfa pegilados.

Los peginterferones, por otro lado, son moléculas de IFNs que han pasado por el proceso de pegilación, que consiste en la modificación de una molécula biológica, conjugándola mediante enlace covalente con polietilenglicol (PEG), un polímero hidrosoluble (Alvarado López, 2015). En el caso del IFN- α existen dos tipos: el IFN pegilado alfa-2a y el IFN pegilado alfa-2b (Mazana, 2013). Ambas moléculas están unidos a moléculas de polietilenglicol distintas; el IFN- α 2a está unido a una molécula de PEG de 40 kDa y el IFN- α 2b, lo está a una molécula de 12 kDa (Buti, 2008; Olivier et al., 2002).

Farmacocinética del IFN- α

A pesar de las similitudes entre los tipos de IFNs, cada uno de estos compuestos actúa de forma diferente en el organismo. La farmacocinética de los IFNs es se da de la siguiente manera: la disminución de las concentraciones séricas es rápida después de la administración intravenosa, se ha visto que el volumen de distribución se aproxima del 20 al 60% del peso corporal (García-García et al., 2016). De acuerdo a estudios *in vivo* realizados en especies animales, se sugiere que el catabolismo de los IFNs se da dentro del manejo natural de las proteínas en el organismo. Sus valores de aclaramiento varían de 4,8 a 48 L/h y reflejan la digestión interna natural y el recambio de estas proteínas (Wills, 1990; Zhao et al., 2017).

El mecanismo de eliminación del IFN- α sin pegilar se da por un aclaramiento renal que supone la eliminación de un aproximado del 30% de la dosis y un metabolismo extra renal, en parte hepático (Avendaño Solà, 2006). El peginterferón alfa-2a de 40 kDa tiene una reducción de más de 100 veces en el aclaramiento renal en comparación con el interferón alfa convencional y el aclaramiento del peginterferón alfa-2b es aproximadamente una décima parte del interferón alfa sin modificar (Lange & Zeuzem, 2013; Nouredin & Ghany, 2010). Considerando el tamaño de la molécula de IFN- α ; la absorción sistémica al

administrarlo por vía intramuscular y subcutánea se absorbe bien, con un porcentaje mayor al 80%. Además estas rutas exhiben una absorción prolongada, lo que da como resultado concentraciones máximas en suero o plasma que ocurren después de 1 a 8 horas, seguidas de concentraciones medibles durante 4 a 24 horas después de la aplicación (Quintero & Ruiz, 2018; Wills, 1990).

Se ha comprobado que el IFN- α 2b pegilado se absorbe de forma rápida por administración subcutánea, se distribuye por los tejidos y su eliminación del organismo es rápida de igual forma, con una semivida de eliminación de entre 2 a 4 horas alcanzando su concentración máxima a las 48-72 horas desde su administración (Avedaño-Alvarado, 2008; Quintero & Ruiz, 2018). IFN- α 2a pegilado tiene una absorción mucho más lenta que los mencionados con anterioridad y no alcanza sus concentraciones máximas hasta las 72-96 horas después de su administración en dosis única, aunque posee un tiempo de semivida de 5,1 horas (Avedaño-Alvarado, 2008; Mazana, 2013; Quintero & Ruiz, 2018). En estudios *in vivo* en especies animales y en fases clínicas iniciales con voluntarios sanos se determinó que, si se administra IFN- α por vía intravenosa, la actividad antiviral circulante se mantiene por un período corto y luego disminuye alcanzando valores indetectables en 4h con el IFN- α 2b y 5 h con el IFN- α 2a después de la administración (Mazana, 2013; Quintero & Ruiz, 2018; Shechter et al., 2001). Esta diferencia se debe a que PEG-IFN- α 2b tiene una cadena PEG lineal de 12 kDa unida a la histidina-34 mediante un enlace uretano inestable que está sujeto a hidrólisis una vez inyectado, liberando IFN- α 2b nativo y la cadena PEG ramificada de 40 kDa del PEG-IFN- α 2a está unida covalentemente mediante enlaces amida estables a residuos de lisina y circula como una molécula intacta (Dimova & Talal, 2010; Foster, 2012). En consecuencia, el PEG-IFN- α 2a tiene un volumen de distribución muy restringido, una vida media más larga y un aclaramiento reducido en comparación con el interferón- α -2b (Foster, 2012).

El catabolismo del IFN- α , incluyendo sus subtipos, ha sido el más estudiado (García-García et al., 2016; Wills, 1990). En general, los IFN- α se filtran a través de los glomérulos del riñón mediante endocitosis luminal seguida de reabsorción tubular proximal (Eshbach & Weisz, 2017). Durante la reabsorción, estas moléculas experimentan una degradación proteolítica por enzimas lisosomales, por lo que ciertas cantidades insignificantes se excretan en la orina intactas (Van et al., 2020).

Varios estudios han evaluado el efecto de la nefrectomía en la farmacocinética de IFN- α y, de acuerdo con los hallazgos anteriores, se ha demostrado que el hígado juega su papel en el catabolismo de esta molécula (Natalia Ceaglio et al., 2016; Vestergaard, 2016; Wills, 1990). Los trabajos realizados hasta ahora sugieren que el catabolismo hepático es la vía predominante de eliminación del IFN- α , aunque se han sugerido otros órganos, como los pulmones y los músculos, como posibles sitios catabólicos (Cruzat et al., 2018; Nallar & Kalvakolanu, 2014). En el estudio realizado por Nishio y colaboradores (2021) se obtuvo que el aclaramiento de PEG-IFN- α 2a y PEG-IFN- α 2b se da principalmente en el hígado debido al secuestro mediado por anticuerpos pues se detectaron grandes cantidades de inmunoglobulina M (IgM) específica de PEG y complejos inmunes con PEG-IFN- α . Esta información se ha obtenido gracias a los estudios realizados sobre las aplicaciones clínicas del IFN y la respuesta del organismo a este fármaco (L. S. Castro et al., 2021; Nishio et al., 2021).

Aplicaciones

El IFN- α y sus formas pegiladas se han utilizado para el tratamiento de diversas afecciones como se mencionó en apartados anteriores. En las infecciones virales agudas existe una respuesta rápida de IFNs con aparición a veces de grandes cantidades de IFN- α en la sangre; sin embargo, esta respuesta es de corta duración y la molécula desaparece de la circulación en unas pocas horas o días (Yu et al., 2016). En las infecciones virales

crónicas puede haber una respuesta de IFN persistente, como por ejemplo, en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana VIH, el IFN- α se puede demostrar de forma sencilla, en el suero en las últimas etapas de la enfermedad a niveles que aumentan con la progresión de la enfermedad (Chalasani et al., 2015; Okajima et al., 2015; Strannegård, 1999).

Los IFN- α representan las citoquinas que exhiben el historial de uso más prolongado en oncología clínica para el tratamiento de más de una docena de tipos de cáncer, incluidas algunas neoplasias hematológicas y tumores sólidos (Pasquali & Mocellin, 2012). Tanto los efectos directos como indirectos de la acción antitumoral del IFN- α se originan a partir de la activación de la vía JAK-STAT y la inducción de los genes estimulados por IFN (ISG). La actividad de esta molécula está mediada, en esencia, por la capacidad de estos de influir en la inhibición del crecimiento de las células tumorales y por la inducción de la apoptosis de estas (muerte celular programada) (McGlynn & London, 2011; Mocellin et al., 2013). También puede modular indirectamente las respuestas inmunomoduladoras y antiangiogénicas en el organismo al promover la diferenciación y la actividad de las células inmunitarias del huésped. (Ferrantini et al., 2007; González et al., 2017). Por otro lado, estos IFNs también inducen una regulación positiva del MHC de clase 1 en las células tumorales, lo que puede mejorar la respuesta efectora de las células T CD8 antitumorales en el microambiente del tumor (Guo et al., 2019; Wang et al., 2012).

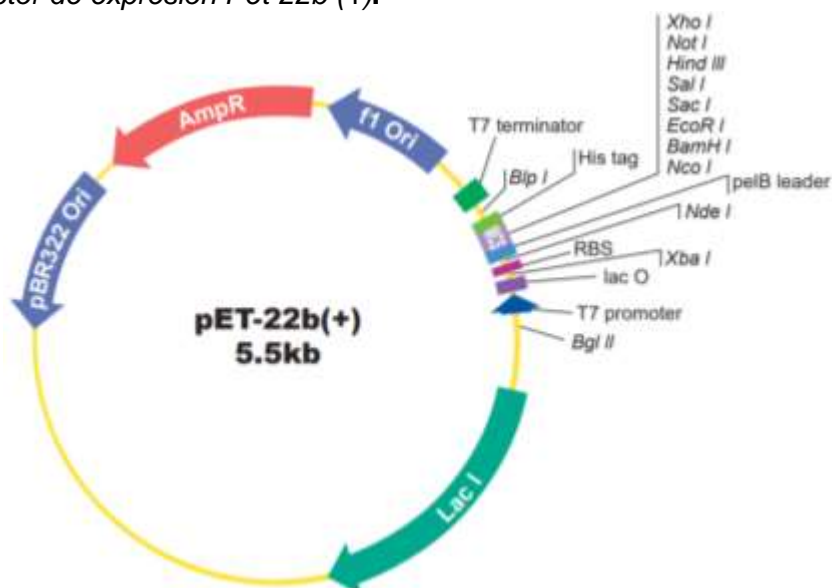
Producción proteínas recombinantes

Las proteínas empleadas como fármacos, en métodos de diagnóstico o en diversos segmentos industriales, así como para fines de investigación son producidas como proteínas recombinantes (Ferrer-Mirallés et al., 2015). Una proteína recombinante es aquella que es producida en un sistema de expresión que ha sido sujeto a modificación genética y que, por lo general, es diferente a las que se producen en las células de forma

natural (Guerrero, 2017). Las estrategias tradicionales para la expresión de estas moléculas implican transfectar células con un vector de ADN que contenga los elementos genéticos necesarios para la expresión del gen de interés como marcadores de selección, origen de replicación, promotor, terminador, etc. (**Figura 5**) y luego cultivarlas para que transcriban y traduzcan el producto deseado (Casablancas et al., 2018; Tripathi & Shrivastava, 2019; Uhoraningoga et al., 2018). Con frecuencia, cuando la generación se da de forma intracelular, las células se lisan para extraer la proteína expresada para su posterior purificación. Si la producción es extracelular solo se recupera la molécula del medio, por lo que se pueden utilizar sistemas de expresión de células procariotas como eucariotas (Casablancas et al., 2018; Lotfi et al., 2018).

Los sistemas de expresión se utilizan en gran medida en la industria, sin embargo la selección de este depende del tipo de proteína, los requisitos de actividad funcional y el rendimiento deseado (Tripathi & Shrivastava, 2019). Hoy en día existe una gran variedad de sistemas de expresión en los que destacan organismos como *Escherichia coli*, que es la bacteria estándar en donde se realizan estos procesos a pesar del gran desarrollo alcanzado por los sistemas de expresión eucariotas (Alvarado-Madrigal et al., 2019; Ferrer-Miralles et al., 2015). También se usan levaduras (eje. *Pichia pastoris*) y diferentes células de mamíferos, que han sido utilizadas para la producción de IFNs. Sin embargo, vale la pena mencionar que el sistema de expresión procariota plantea, en muchos casos, severas restricciones para una producción exitosa de proteínas heterólogas (Peebo & Neubauer, 2018; Serrano-Rivero et al., 2016).

Figura 4.
Estructura del vector de expresión Pet-22b (+).



Nota. Vector de expresión utilizado con la cepa de *E. coli* Shuffle® T7. AmpR como marcador de selección (resistencia a antibiótico), f1 y pBR3 como origen de replicación, promotor y terminador T7, RBS sitio de unión al ribosoma, operon Lac, His tag etiqueta de polihistidina, sitios de restricción desde Nco I a Xho I para insertar el gen de interés. Obtenido de GenScript <https://www.genscript.com/gsfiles/vector-map/bacteria/pET-22b.pdf>

Cada sistema cuenta con sus ventajas y desventajas, ya que se deben manejar factores como inactividad de las proteínas, la velocidad de crecimiento del hospedero y la formación de cuerpos de inclusión (Uhoraningoga et al., 2018). Todos estos parámetros son siempre considerados antes de comenzar cualquier proceso productivo debido a que todos estos métodos son de cultivo continuo. Los procesos para la producción de proteínas han sido desarrollados con el único fin de hacer crecer células que expresan un compuesto de interés en un entorno constante y se han utilizado durante décadas para estudiar la fisiología microbiana básica de una manera controlada y reproducible (Alvarado-Madrigal et al., 2019; Peebo & Neubauer, 2018).

Producción de IFN humano recombinante a gran escala

Para utilizar el IFN- α con fines terapéuticos, se requieren métodos para producir grandes cantidades de la sustancia y con un alto nivel de pureza (Kamionka, 2011). Estos IFNs pueden producirse mediante estimulación viral de células de mamíferos o generadas a partir de microorganismos genéticamente modificados (Quintero & Ruiz, 2018). Los primeros ensayos con I IFN- α utilizaron preparaciones semipurificadas de esta molécula obtenidas de cultivos humanos de leucocitos que habían sido estimulados con un paramixovirus (virus Sendai). Después de la clonación de genes de IFN, fue posible utilizar técnicas de ADN recombinante para producir grandes cantidades del producto purificado de manera económica (Ángel Galván-Morales et al., 2013; Strannegård, 1999). Utilizando otra línea de investigación, se demostró que ciertas líneas de células linfoblastoides producían, de forma constitutiva, grandes cantidades de IFN- α , de modo que, podían usarse para la producción a gran escala (Löseke et al., 2002).

En la actualidad, existen diversos tipos principales de preparaciones comerciales de IFN- α que están disponibles como se puede ver en la **Tabla 2**.

Tabla 2.

Preparaciones de IFN- α terapéuticos disponibles.

Nombre y casa Comercial	Ingrediente farmacéutico activo	Sistema de producción	Estado	Fuente
Roferon A[®] Hoffmann–La Roche	IFN- α 2a	<i>E. coli</i>	En uso	(Chemocare, 2013; Ryff & Pestka, 2013)
Pegasys[®] Hoffmann–La Roche	PEG-IFN- α 2a	<i>E. coli</i>	En uso	(L. S. Castro et al., 2021; Silva & Lobo, 2019; Walsh, 2018)
Intron A[®], Alfatronol[®] Merck Sharp & Dohme Corp.	IFN α -2b	<i>E. coli</i>	En uso	(European Medicines Agency, 2010;

Nombre y casa Comercial	Ingrediente farmacéutico activo	Sistema de producción	Estado	Fuente
				Sedano & Serra, 2003)
Rebetron® Schering-Plough Corporation	ribavirin/IFN α -2b	<i>E. coli</i>	En uso	(L. S. Castro et al., 2021; Ryff & Pestka, 2013)
PegIntron® Schering-Plough Corporation	PEG-IFN- α 2b	<i>E. coli</i>	En uso	(Center for Drug Evaluation and Research, 2014)
Sylatron™ Merck & Co., Inc.	PEG-IFN- α 2b	<i>E. coli</i>	En uso	(Food and Drugs Administration, 2011b)
Alferon N® AIM ImmunoTech	IFN- α 3	Leucocitos humanos	En uso	(AIM ImmunoTech, 2015; Yonezawa et al., 2003)
Wellferon® Glaxo Wellcome	IFN- α 1	Células linfoblastoides humanas	En uso	(L. S. Castro et al., 2021; Strannegård, 1999)
Viraferon® Schering-Plough Corporation.	IFN α -2b	<i>E. coli</i>	Descontinuado	(L. S. Castro et al., 2021; Silva & Lobo, 2019)
ViraferonPeg® Merck Sharp & Dohme Corp.	PEG-IFN- α 2b	<i>E. coli</i>	Descontinuado	(Kumar & Singh, 2014; Ryff & Pestka, 2013)
Albinterferon®/Albuferon® Novartis—Basel.	IFN- α 2b	<i>E. coli</i>	Descontinuado	(Noureddin & Ghany, 2010; Walsh, 2018)
Berofor® Boehringer Ingelheim, Lda.	IFN α -2c	<i>E. coli</i>	Descontinuado	(Kumar & Singh, 2014; Schaefer et al., 2002)
Infergen® Three Rivers Pharmaceuticals.	IFN α /Ribavirin	<i>E. coli</i>	Descontinuado	(Noureddin & Ghany, 2010)

Nota. Elaborado por Troya, L.

El proceso completo para la obtención de IFNs tiene cuatro etapas principales: el desarrollo, donde se aísla el gen de interés, se clona en un plásmido y se introduce en el anfitrión seleccionado; la producción *aguas arriba*, que es la elección de un sistema de expresión particular y establecer las condiciones de cultivo; la etapa *aguas abajo*, donde se recupera y se purifica la proteína con diferentes técnicas cromatográficas como: SEC: cromatografía de exclusión por tamaño (Mayolo-Deloisa et al., 2012), HIC: cromatografía de interacción hidrofóbica (Some et al., 2019), IEX: cromatografía de intercambio iónico (L. S. Castro et al., 2021), AC: cromatografía de afinidad (Chaiken, 2018), RP: cromatografía de fase inversa (T. Y. Huang et al., 2018) y el acabado, donde se desarrolla el producto final de acuerdo con el método de administración (Biopharmaceuticals from Microorganisms: From Production to Purification, 2016; Rosano & Ceccarelli, 2014). El proceso debe asegurar que la estabilidad y actividad biológica del biofármacos se mantenga (L. S. Castro et al., 2021).

Se ha realizado un esfuerzo considerable en la ingeniería genética para diseñar sistemas de expresión a partir de cepas de levadura, *E. coli*, y células de mamíferos para la expresión funcional de las proteínas humanas que incluyan vías de plegado, ensamblaje y procesamiento particularmente complejas (Standfuss et al., 2013; Xiao et al., 2013, 2015). Sin embargo, en muchos casos hay información limitada sobre los factores que afectan la expresión de cualquier proteína en particular, por lo que la actualidad las estrategias a menudo son fragmentadas y se centran solo en el mejoramiento de uno o dos aspectos del proceso de producción de proteínas (Gruswitz et al., 2010; Xiao et al., 2015).

Hoy en día el uso de *Escherichia coli* es el método de producción más utilizado de la que se obtiene una proteína en forma insoluble como cuerpos de inclusión, que luego se solubilizan y repliegan (Arif et al., 2015). Se han realizado diversas modificaciones este sistema de expresión (**Tabla 3**) para hacerlo más eficientes con el fin de minimizar la

degradación proteolítica, la acumulación o mal plegamientos de las proteínas recombinantes que se producen, ahora estas mejoras forman la base para una gama de plataformas de producción de IFN- α para su aplicación biofarmacéutica (Selas Castiñeiras et al., 2018).

Tabla 3.

Cepas de E. coli disponibles comercialmente para la producción de IFN- α y sus características.

Cepa de <i>E. coli</i>	Características
BL21(DE3)	Albergan copias adicionales de los genes de ARNt argU, ileY y leuW, que reconocen los codones raros AGA / AGG (arginina), AUA (isoleucina) y CUA (leucina), respectivamente. Lleva una copia adicional de proL tRNA Mejora la expresión de proteínas heterólogas.
JM109(DE3)	Se usa para la expresión de alto nivel de genes clonados en vectores para la expresión de la secuencia cadena abajo del promotor T7. Contiene un gen inducible por IPTG para la ARN polimerasa T7. Requiere un sitio de unión ribosomal con secuencia clonada.
Shuffle™ T7	Expresar constitutivamente isomerasa de enlace disulfuro (DsbC). Promueve el plegamiento adecuado de proteínas recombinantes. Deficiente en proteasas Lon y OmpT.
TG1	Células adecuadas para la expresión de proteínas. Eficiencia con la electroporación. Cepa de <i>E. coli</i> de crecimiento rápido.

Cepa de <i>E. coli</i>	Características
	Regulación estricta de vectores de expresión que contienen un promotor de <i>E. coli</i> bajo el control de un promotor lac.
W3110	Cepa tipo salvaje de <i>E. coli</i> K12. Crecimiento más rápido que BL21(DE3). Tolerancia al choque térmico y a los productos químicos tóxicos.
XL2-Blue MRF	Células competentes deficientes en todos los sistemas de restricción conocidos de <i>E. coli</i> K12 (McrA ⁻ , McrCB ⁻ , McrF ⁻ , Mrr ⁻ , HsdR ⁻). Posible clonar ADN metilado. Clonación de alta eficiencia. Deficiente en endonucleasas (endA), mejora la calidad de ADN. Deficiente en recombinación (recA), garantizar la estabilidad del inserto.

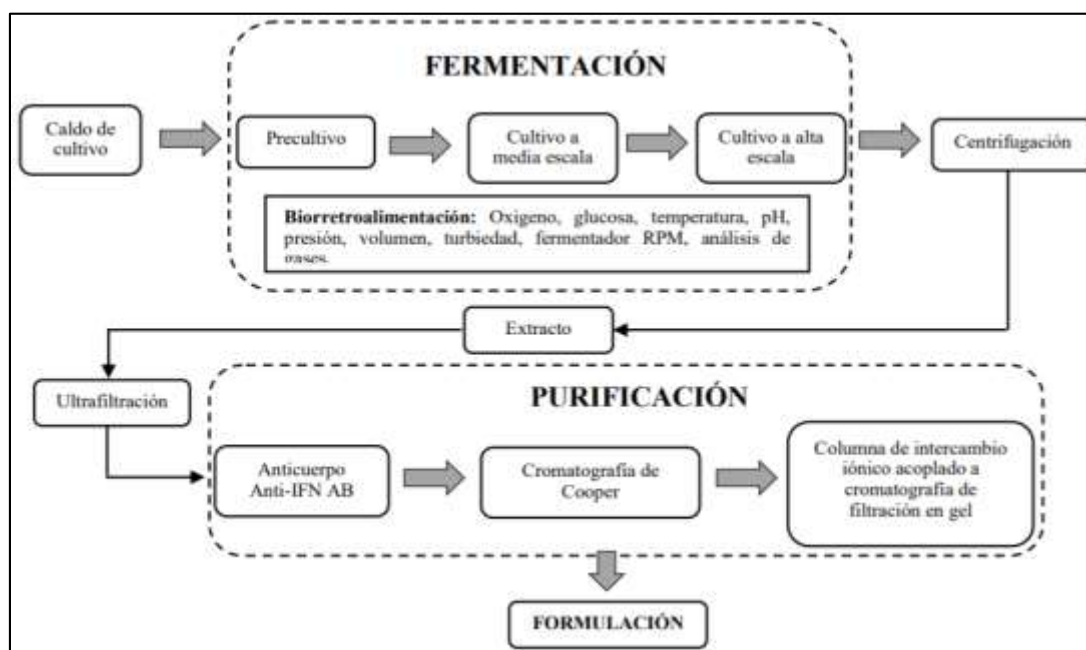
Nota. Elaborado por Troya, L. Obtenido de (Baeshen et al., 2015; Baumgärtner et al., 2013; Breitling et al., 1989; Chai et al., 2020; S. H. Chen et al., 2013; El-Baky et al., 2021; Ting et al., 2020; Yeom et al., 2016).

Los IFNs derivados de bacterias se purifican hasta la homogeneidad usando un proceso iterativo que implica una variedad de pasos de purificación como se presenta en la **Figura 5** (Babaeipour et al., 2013; Quintero & Ruiz, 2018). Estos pasos, correspondientes a la parte más cara de todo el procedimiento, son de importancia crítica para la producción de proteínas humanas en los diferentes microorganismos utilizados, cualquier contaminación originada por elementos propios de la célula, causaría reacciones de defensa inmunológica en seres humanos y esto pondría en peligro la vida del consumidor y la aplicabilidad del producto en el futuro (Bodo et al., 1991; L. S. Castro et al., 2021; Ramón et al., 2009).

La eliminación de contaminantes apenas presenta problemas y los métodos analíticos en extremo sensibles ahora disponibles detectan las endotoxinas bacterianas en concentraciones muy pequeñas. También en el campo de la investigación del IFN, se han desarrollado métodos de purificación con los que se pueden obtener preparaciones de IFN que en realidad son libres de endotoxinas (Dullah & Ongkudon, 2017; Havell et al., 1980; Wingfield, 2015).

Figura 5.

Esquema del proceso de producción y posterior purificación de los Interferones.



Nota. Obtenido de: Interferon proteins: Structure, production and purification. en a. meager, the interferons: characterization and application por (Platis & Foster, 2006).

Ensayos clínicos realizados

Para que se apruebe el uso de estas proteínas como agentes terapéuticos es necesario que primero pasen por diversas fases de desarrollo hasta culminar con los ensayos clínicos, que tienen como objetivo evaluar una intervención médica, quirúrgica o

conductual de un nuevo fármaco (Molina & Ochoa, 2014). Estos estudios son la principal forma en que los investigadores averiguan si un nuevo tratamiento, como un nuevo medicamento, dieta o dispositivo médico es seguro y eficaz para las personas (Govani & Higgins, 2012). Los ensayos clínicos se llevan a cabo en fases que se complementan entre sí; cada una está diseñada para responder a determinadas preguntas por lo que saber la fase en la que se encuentra un ensayo ayudaría a dar una idea de cuánto se conoce sobre el tratamiento o fármaco que se está estudiando (Mayo et al., 2017; Piantadosi, 2017).

Se han realizado ensayos clínicos sobre el uso del IFN- α en diversas enfermedades como hepatitis, melanomas, linfomas entre otros y se ha visto que el uso terapéutico de este producto ha acumulado un elevado número de investigaciones realizadas a nivel internacional (Friedman, 2008; Mayo et al., 2017). El análisis de los efectos toxicológicos del IFN- α , para la elaboración de un análisis de su perfil de seguridad, ha sido uno de los temas centrales de estas investigaciones puesto que, la sensibilidad que los pacientes tienen al IFN en ciertos tratamientos médicos, se ha vuelto un factor determinante para el éxito o fracaso de la terapia (Lange & Zeuzem, 2013; WeiJing et al., 2017). Se han descrito diversos efectos secundarios debidos al IFN-alfa en casi todos los estudios farmacológicos realizados, estos efectos secundarios dependen claramente de la dosis (Davoodi et al., 2018; Sleijfer et al., 2005). En conjunto, la aparición de síntomas similares a los de la gripe, la toxicidad hematológica, las transaminasas elevadas, las náuseas, la fatiga y las secuelas psiquiátricas son las más frecuentes (Mesripour et al., 2020). Las pautas sobre el tratamiento de estas secuelas adversas se basan principalmente en la experiencia clínica, mientras que muchos efectos secundarios solo pueden manejarse adecuadamente ajustando la dosis o interrumpiendo el tratamiento (How & Hobbs, 2020; Malhotra, 2016). En un estudio realizado por Nordase y López (2017) se revisaron 28 años de reportes de eventos adversos en 5806 individuos, tanto niños como adultos, provenientes de 147

ensayos clínicos o asistencias saludables utilizando Heberon® Alfa R. En este se informaron eventos adversos en el 84% de los pacientes, sin embargo el 60% de los pacientes tratados obtuvieron una respuesta terapéutica relevante por lo que se considera una relación de beneficio/riesgo favorable (Berlin et al., 2008; Nodarse-Cuní & López-Saura, 2017).

Capítulo III: Revisión Metodológica

El presente estudio fue realizado con la finalidad de describir los tipos de procesos productivos que se han utilizado para la obtención del IFN- α humano recombinante y su relevancia en la aplicación clínica. Para el trabajo metodológico se recopiló información bibliográfica de varias bases de datos que proveyeron tesis, capítulos de libros y artículos científicos sobre la producción de IFN- α además de sus usos como fármaco. De estos documentos se escogieron los que eran de interés para la investigación en base a los criterios explicados en los siguientes apartados y se realizó un análisis bibliométrico de estos. Por último, se procedió al análisis conceptual de la información recopilada para realizar el escrito final.

Búsqueda de información

La búsqueda de fuentes bibliográficas para la elaboración de la investigación se llevó a cabo con el fin de reconocer la literatura más relevante, pertinente y confiable mediante una perspectiva ordenada y enfocada en el área de interés. Se recopiló información de las bases de datos digitales, en este caso, repositorios de universidades, conferencias y artículos de investigación enfocados en la producción y usos clínicos del IFN- α (Moncada-Hernández, 2014).

La búsqueda de los artículos científicos se realizó en la red social europea para científicos e investigadores ResearchGate o en el buscador de literatura académica Google Scholar y otras bases de datos como PubMed, ScienceDirect o SciELO ya que estas son bases de datos de carácter multidisciplinar más destacadas a nivel internacional (García et al., 2012). La revisión de los documentos se realizó tanto en inglés como español, enfocándose en los más recientes (los últimos 5 años). En la búsqueda se consideraron documentos a nivel nacional e internacional con el afán de no limitar la obtención de la

información. Las palabras de búsqueda usadas se concentraron en título y las frases clave relacionadas con el tema de investigación como se detalla en la Tabla 4.

Tabla 4.

Fuentes de artículos y palabras de búsqueda utilizados en la investigación.

Fuentes de información	SciELO
	Google Scholar
	PubMed
	ScienceDirect
	ResearchGate
Palabras de búsqueda	IFN- α
	PEG-IFN
	Proceso de producción
	Aplicación clínica
	Toxicidad
	Ensayos clínicos

Nota. Tabla elaborada por Troya, L.

Como se puede apreciar en la Tabla 4, se emplearon seis frases de búsqueda, teniendo entre diferentes resultados de búsqueda para realizar una recopilación de información completa, además se consideraron siete diferentes fuentes de información ya es importante considerar la mayor cantidad de fuentes para obtener resultados que se relacionen con la temática de estudio para evitar la pérdida de información.

Basándose en el título de los artículos obtenidos y el resumen de los mismos, los documentos se clasificaron de acuerdo a los criterios de aceptación y rechazo de la literatura científica.

Selección, clasificación y organización de los datos

Debido a la gran cantidad de documentos encontrados, estos fueron clasificados, como “aceptado, no disponible, de acceso restringido y rechazado”, a partir de la información extraída del título y del resumen del documento. Esta clasificación fue el primer

filtro para la selección de los documentos que se incluyeron en la revisión sistemática. También se aplicaron criterios de selectividad para identificar los más relevantes y organizarlos utilizando el programa MENDELEY tanto para el manejo de información como para la elaboración de las citas bibliográficas, la Tabla 5 presenta la matriz de datos utilizada para facilitar la mayor cantidad de información posible, garantizando un registro más completo en de las bases de datos.

Tabla 5.

Matriz de datos de la investigación

Sección	Categoría
Palabras claves	IFN- α
	PEG-IFN
	Proceso de producción
	Aplicación clínica
	Toxicidad
Tipo de documento	Ensayos clínicos
	Tesis de pregrado
	Tesis de posgrado (maestría o doctorado)
	Libros
	Informe de congreso o seminarios
Idioma	Artículos científicos
	Inglés
Fuentes de información	Español
	SciELO
	Google Scholar
	PubMed
	ScienceDirect
Proceso de verificación	ResearchGate
	Aceptado
	No disponible
	Acceso Restringido
	Rechazado

Nota. Elaborado por Troya, L

A partir de este proceso de búsqueda, se logró recopilar una gran variedad de información sobre el tema de investigación, sin embargo, no toda la información obtenida

fue relevante, por lo que se realizó una nueva depuración tomando en cuenta diferentes criterios.

Criterios de selección de los estudios relevantes

Los criterios de aceptación de los artículos a analizar fueron los siguientes:

- Relevancia o aporte de la información para el trabajo a realizar
- Naturaleza del contenido
- Propósito del estudio realizado
- Idioma (inglés/español)
- Origen y confiabilidad (Personal/Institucional)
- Autenticidad del contenido
- Nivel de especialización
- Accesibilidad a la información
- Tipo de fuente de la información

En base a estos criterios se verificó que toda la información seleccionada fuera acorde con la pertinencia y aportes al objeto de esta investigación. Los documentos seleccionados se analizaron mediante una revisión sistemática exploratoria (RSE).

Categorización de la información

Los documentos seleccionados fueron agrupados en cuatro categorías o temas de interés para su posterior análisis. En la Tabla 6 se describe cada una de las categorías de búsqueda.

Tabla 6.

Categorías para la organización de los documentos obtenidos.

Categoría	Descripción
IFN-α y sus tipos	Concepto
	Tipos de IFN- α
	Formulaciones de IFN- α
Métodos de producción	Producción en bacterias
	Otros sistemas de expresión
	Producción en células de mamíferos
	Producción sistema libre de células
Aplicación	Antiviral
	Antiproliferativa
	Tratamientos en los que se utiliza IFN- α
Limitaciones del uso de IFN-α	Efectos secundarios
	Interacción con otros fármacos

Nota. Elaborado por Troya, L.

Ensamblaje de la información

Se realizó un análisis sobre los principales documentos con las ideas más relevantes y los aspectos importantes para el tema a tratar, mediante la lectura de los resúmenes y conclusiones de dichos artículos. Más adelante se procedió a identificar los artículos de mayor interés mediante una revisión sistemática exploratoria, cuyos principales objetivos son evaluar la calidad y metodología empleadas en las investigaciones realizadas, sintetizar la evidencia científica y ser de utilidad en la toma de decisiones mediante una serie de pasos ordenados como se describen en la Tabla 7 (Manchado Garabito et al., 2009). Este tipo de investigación permitió sintetizar la evidencia existente respecto al tema, con el fin de establecer una idea de qué se ha hecho y de qué manera, permitiendo identificar aquellos aspectos que pueden ser estudiados con más detalle (Fernández-Sánchez et al., 2020).

Tabla 7.

Diseño del protocolo de una revisión sistemática exploratoria.

Sección	Elementos
Introducción	Pregunta de estudio
	Objetivos
Metodología	Criterios de inclusión
	Identificar las fuentes de información
	Establecer la estrategia de búsqueda
	Selección y clasificación de los estudios obtenidos.
	Definición de variables de estudio
	Extracción de datos
Resultados	Resumen del número de artículos obtenidos en cada fase
	Análisis de la extracción de datos
	Análisis bibliométrico
Conclusiones y recomendaciones	De acuerdo con los objetivos enunciados y la información obtenida en el proceso de revisión.

Nota. Información obtenida de Revisiones Sistemáticas Exploratorias. Scoping review por (Manchado Garabito et al., 2009).

Análisis

Toda la información fue procesada en tablas que resumen la información y en caso de ser necesario el uso de gráficas de análisis de datos, estas se realizaron en el software estadístico RStudio, caso contrario se realizaron las tablas utilizando las herramientas de Word.

Softwares Utilizados

Mendeley

MENDELEY es un gestor bibliográfico que combina una plataforma web con una versión de escritorio, que permite gestionar y compartir referencias bibliográficas y

documentos de investigación, encontrar nuevos datos lo que permite la creación y organización de una base de datos de referencias bibliográficas, la inserción de citas y la creación de bibliografías en múltiples estilos bibliográficos (D. Ruiz, 2016; Universidad de Zaragoza, 2020).

RStudio

RStudio es un entorno de desarrollo integrado para el lenguaje de programación R, que fue diseñado para realizar análisis estadísticos y gráficas, además es software libre, por lo que su uso es gratuito (Busotz, 2020; E. Ruiz, 2019).

Capítulo IV: Resultados y discusión

Este trabajo estuvo orientado a la recopilación y análisis de los procesos de producción del IFN- α humano recombinante, usos y efectos dentro de la aplicación clínica. Su desarrollo se basó en dos ejes principales. El primero fue la recopilación de información, para ello se realizó una investigación sistemática exploratoria (RSE) en la que se recopilaron 315 documentos con la información necesaria para ser analizados. El segundo eje fue el ensamblaje y análisis de la información obtenida de estos documentos de manera ordenada para establecer todos los puntos mencionados con anterioridad.

Sistemas de producción

En los últimos años el desarrollo de la ingeniería genética permitió la producción de grandes cantidades de este IFN de alta calidad (Borden et al., 2007). Ya que los IFNs se producen de forma natural en cantidades demasiado pequeñas en el organismo, los protocolos de producción a gran escala son cruciales para poder elaborar esta molécula y ser capaz de purificarla para su caracterización fisicoquímica, y para su estudio dentro de nuevos ensayos clínicos (Casablanca et al., 2018; El-Baky & Redwan, 2015). Hoy en día, existen moléculas bioterapéuticas elaboradas en varios tipos de organismos hospederos, estas se manufacturan con frecuencia tras un proceso de manipulación genética del organismo hospedador usando tecnología de ADN recombinante (Aps et al., 2016; Casablanca et al., 2018).

Los sistemas más usados para la producción del IFN son: la bacteria *Escherichia coli*, ciertas levaduras y células de mamíferos (S. Fischer et al., 2015). La elección del organismo hospedador determinado para la expresión de una proteína terapéutica se basa en varios criterios como: la aplicación final del producto, la complejidad del mismo, los requisitos de calidad del producto, la productividad, el rendimiento económico y la

tecnología disponible (Casablanco et al., 2018; Biopharmaceuticals from Microorganisms: From Production to Purification, 2016).

Producción en bacterias

Producción en E. coli

El sistema de expresión de proteínas recombinantes de *E. coli* ha sido, y todavía es, el sistema de elección para la producción de IFNs ya que sus genes no tienen intrones y los productos proteicos en general no están glicosilados (El-Baky & Redwan, 2015). Además, *E. coli* puede crecer de forma rápida a altas densidades celulares y las cepas usadas para la producción de proteínas recombinantes se han modificado genéticamente de modo que, por lo regular, se las considera seguras para la producción a gran escala (Algirdas, 2011; Dias et al., 2018).

Se han probado varios sistemas de promotores en *E. coli* con el fin de lograr altos niveles de expresión de la proteína como se puede apreciar en la **Tabla 8** (El-Baky & Redwan, 2015). Los procesos convencionales se basan en la sobreexpresión citoplasmática de la proteína, en la que el IFN expresado está presente en la célula en forma insoluble (cuerpos de inclusión) o se encuentra en la fracción soluble después de que la pared celular ha sido permeabilizada o lisada (Hauptman et al., 1998).

Tabla 8.

Sistemas de expresión utilizados para la producción de IFN- α humano recombinantes en Escherichia coli.

Cepa	Vector	Promotor	Antibiótico	Inductor	Expresión	Cantidad de IFN-α total producida (mg/L)	Fuente
BL21(DE3)	pGEM-T	T7 <i>lac</i>	Ampicilina	IPTG	IC (CI)	70	(Platis & Foster, 2006)
JM109(DE3)	pET-9	T7	Kanamicina	IPTG	IC (CI)	500	(Shin et al., 2001; Valente et al., 2006)
Shuffle™ T7	pET SUMO	T7 <i>lac</i>	Kanamicina	IPTG	IC (soluble)	50	(L. S. Castro et al., 2021; Peciak et al., 2014)
TG1	pUC19	LacZ	Ampicilina	IPTG	IC (soluble)	300	(Breitling et al., 1989)
W3110	pAT153	Poa	Tetraciclina	Deficiencia fosfato	IC (soluble)	340	(Hauptman et al., 1998)
XL2-Blue MRF	TOPO	BAD	Ampicilina Kanamicina	L-Arabinosa	IC (CI)	182	(Lenis et al., 2010)

Nota. Elaborado por Troya. *IC:* intracelular, *CI:* Cuerpos de inclusión, *IPTG:* soppil- β -D-1-tiogalactopiranosido

Con frecuencia el proceso de producción en *E. coli* se da mediante la expresión intracelular de una secuencia de ADN que codifica el IFN en la bacteria modificada para luego recuperar la proteína en forma no nativa de los cuerpos de inclusión en los que se encuentra. Después pasa por un proceso cromatográfico sobre una resina con un intercambiador catiónico fuerte, una posterior renaturalización, y un último paso de purificación de la proteína replegada mediante una nueva cromatografía (Baralle & Tisminetzky, 2003). Con esto se obtiene un rendimiento de 1,0 mg / g de masa celular húmeda y una proteína estable con una pureza mayor al 99% (Petrov et al., 2010).

Una forma de sortear este proceso es mediante el uso de la cepa de *E. coli* SHuffle T7 competentes (SHuffle® T7), que está dedicada a producir proteínas activas con enlaces disulfuro correctos con altos rendimientos dentro de su citoplasma (Lobstein et al., 2012; Robinson et al., 2015). Además, es utilizada cuando se quieren realizar procesos adicionales como dimerización y conjugación de IFNs con otras moléculas como se menciona en los párrafos anteriores (Herrington-Symes et al., 2017).

Esta variedad se basa en la cepa de *E. coli* K12 mutante adecuada para la expresión de la proteína T7 con capacidad mejorada para plegar correctamente proteínas en el citoplasma. Esta cepa tiene deleciones de la tioredoxina reductasa (trxB), glutatión reductasa (gor) y sobreexpresión de la proteína de intercambio disulfuro (DsbC), lo que da como resultado la reducción de sus vías reductoras citoplasmáticas, lo permite la formación de enlaces disulfuro en el citoplasma (Lara, 2011; Lobstein et al., 2012; Selas Castiñeiras et al., 2018). Con el uso de esta cepa se puede dar la optimización de la expresión de proteínas, ya que se dará la coexpresión de varias proteínas auxiliares lo que ayudará a que la proteína de interés se exprese de forma eficiente y este plegada de forma correcta (Fathi-Roudsari et al., 2016; Peciak et al., 2014; Robinson et al., 2015).

Limitaciones de la producción en E. coli

Con frecuencia, la sobreexpresión de las proteínas del IFN- α humano en *E. coli* conduce a la acumulación de proteína en cuerpos de inclusión (El-Baky & Redwan, 2015). Las proteínas expresadas en forma de los cuerpos de inclusión suelen estar mal doblados y en ocasiones pierden su actividad por lo que solo un porcentaje de las moléculas producidas en realidad podrán ser utilizadas (Singh et al., 2015). En el caso de la cepa SHuffle® T7, es necesario tener un control estricto del proceso a cada momento ya que una variación de los parámetros como temperatura y nutrientes provocan un fallo en la maquinaria de la célula dando como resultado cuerpos de inclusión y un bajo rendimiento (Correa, 2017).

La expresión de proteínas fuera de su contexto original es otra limitación, ya que pueden contener codones que rara vez se utilizan en el huésped deseado o contener elementos reguladores que limitan la expresión dentro de su secuencia de codificación (Quaresma et al., 2019). En el caso de los IFNs, esto es importante para su expresión ya que la presencia de los clusters AGG=AGA, CUA, AUA, GGA o codones CCC en genes heterólogos pueden disminuir la cantidad y calidad de la proteína (El-Baky & Redwan, 2015). Vu y colaboradores (2016) demostraron que al eliminar el sesgo de codones mientras se utilizan versiones optimizadas de codones de genes diana para su expresión en *E. coli*, se aumenta con éxito la producción de IFN solubles (L. S. Castro et al., 2021; Vu et al., 2016).

Otros sistemas de expresión

Producción en Trichoderma reesei

Trichoderma reesei es un organismo de producción de proteínas establecido con alta capacidad natural para secretar enzimas (Katla & Sivaprakasam, 2019; Rantasalo et

al., 2019). Este hongo filamentoso tiene una tremenda capacidad para secretar más de 100 g / L de esta molécula y, por consiguiente, es un excelente sistema huésped para la producción de altos niveles de proteínas terapéuticas a bajo costo. Además, *T. reesei* es un organismo reconocido por lo regular como seguro (GRAS) por la Administración de Drogas y Alimentos de los Estados Unidos (Dellas et al., 2021; Landowski et al., 2016; Legastelois et al., 2016).

Hoy por hoy, *T. reesei* se ha propuesto como una plataforma de producción de bajo costo para proporcionar productos biofarmacéuticos, en este caso, IFN- α (A. J. Fischer et al., 2021; Rantasalo et al., 2019). Según Landowski, et al. (2016) el mejor método de producción es realizando la delección de proteasa aspártica pep5 y luego en este microorganismo modificado construir una cepa de producción de IFN- α 2b, este proceso presenta mejores niveles de producción de proteína en comparación con otras 15 delecciones también realizadas en este estudio (Katla & Sivaprakasam, 2019; Landowski et al., 2016).

Para construir el vector de expresión de IFN- α 2b, se realizó una optimización de codones que codifica esta proteína para la expresión en *T. reesei* y está dirigida por el promotor *cbh1* y terminada con el terminador *cbh1*. El IFN- α 2b se expresa como una proteína de fusión escindible con CBHI. Después este vector de expresión, denominado pTTv173 (IFN- α 2b), se ensambló mediante el método de clonación por recombinación (Fitz et al., 2018; Landowski et al., 2016; Rantasalo et al., 2019). Las células se mantuvieron en crecimiento en biorreactores de volumen variable y al cabo del 4-5 día se centrifugó para recolectar el sobrenadante y purificar la proteína de interés utilizando columnas de afinidad (Landowski et al., 2016).

Limitaciones de la producción en *Trichoderma reesei*.

La producción de proteasas fúngicas se ha identificado durante mucho tiempo como una barrera importante para lograr altos niveles de producción de proteínas heterólogas por lo cual, para reducir el problema de la proteasa se requiere un paso previo de eliminación de múltiples genes de proteasa o la obtención de cepas específicas con esta modificación (Fitz et al., 2018; Katla & Sivaprakasam, 2019; Landowski et al., 2016).

Producción en Yarrowia lipolytica

La levadura no convencional *Yarrowia lipolytica* ha despertado un fuerte interés industrial por la producción de proteínas heterólogas (Gasmi, Ayed, Ammar, et al., 2011; Katla & Sivaprakasam, 2019; Legastelois et al., 2016). Al igual que se da en las células eucariotas superiores, en los primeros pasos de la secreción de proteínas, se sigue la ruta de co-traducción lo cual ofrece una serie de ventajas como: la formación de enlaces disulfuro, la glicosilación y el plegamiento de proteínas, además, las proteínas pueden secretarse de forma directa en el medio de cultivo (Gasmi, Fudalej, et al., 2011; Katla & Sivaprakasam, 2019; Vandermies & Fickers, 2019).

De acuerdo a estudios realizados en esta levadura, específicamente en *la cepa* JMY1852p, se ha visto que la producción de IFN- α 2b humano en *Y. lipolytica* se mejoró mediante el control del promotor POX2 inducible por ácido oleico (OA) (Gasmi, Fudalej, et al., 2011; Walia, 2020). La viabilidad celular y la producción de proteínas heterólogas se mejoraron mediante la utilización del medio definido como SM4 (elaborado por Invitrogen para la producción heteróloga en *Pichia pastoris*) (Cos et al., 2006; Vandermies & Fickers, 2019), que fue el más adecuado con la modificación de una alimentación exponencial de glucosa, para generar biomasa antes de la inducción de OA (Gasmi, Ayed, Nicaud, et al., 2011). De esta manera, mediante las modificaciones mencionadas junto con la alimentación

continua con OA en una proporción de 0.02 g por g de peso de células secas se aumentó la producción de IFN- α 2b en un factor de 1.88 (425 mgL⁻¹) respecto a la producción normal, disminuyó el tiempo de inducción en un factor de 2,6 (21 h) y produjo un IFN 19 veces más activo (26,2 \times 10⁷ IUmg⁻¹) (Gasmi, Ayed, Ammar, et al., 2011; Katla & Sivaprakasam, 2019).

Limitaciones de la producción en *Yarrowia lipolytica*.

No se conoce a profundidad comportamiento de esta levadura en grandes biorreactores y la mayoría de los estudios que describen la producción de proteínas recombinantes por esta levadura se basan en el uso de medios complejos, que no son convenientes para la producción a gran escala, sobre todo para productos destinados a aplicaciones farmacéuticas (Gasmi, Ayed, Nicaud, et al., 2011; H. He et al., 2019; Katla & Sivaprakasam, 2019). Por otro lado, la composición del medio también puede afectar el rendimiento de producción (Gasmi, Ayed, Ammar, et al., 2011; Gasmi, Ayed, Nicaud, et al., 2011). En consecuencia, se requiere el establecimiento de condiciones de inducción adecuadas para maximizar la producción de proteína recombinante bajo el control de estos promotores (Gasmi, Ayed, Ammar, et al., 2011; Katla & Sivaprakasam, 2019; Yabin et al., 2016).

Producción en Pichia pastoris

Hoy en día *P. pastoris* es una de las herramientas estándar utilizadas en biología molecular para la generación de proteínas recombinantes pues esta levadura ha demostrado su éxito como herramienta de producción a gran escala mediante procesos de fermentación (Cregg et al., 2000; Ping et al., 2016). Por otro lado, la levadura metilotrófica *Pichia pastoris* es insensible a la actividad inhibidora de crecimiento que posee el IFN- α por lo cual su uso como hospedero no sería un problema (Durocher Yves et al., 2009; Legastelois et al., 2016; Ping et al., 2016).

Uno de los estudios que se han realizado ha empleado una estrategia de glicoingeniería para construir un IFN- α (2b en este caso) con un sitio potencial de N-glicosilación para evitar inconvenientes utilizando una cepa llamada SuperMan5 de *Pichia pastoris* (GlycoSwitch[®]) para producir IFNs con N-glicanos de tipo humano (Katla et al., 2019; RCT, 2012; Yabin et al., 2016). La cepa recombinante SuperMan5 expresó IFN- α 2b N-glicosilado de manera homogénea dando como resultado una molécula que fue biológicamente activa (Katla et al., 2019).

En estos casos con frecuencia se utilizan “vectores AOX1”, que poseen el promotor, alcohol oxidasa (AOX), el más utilizado para la expresión de proteínas recombinantes ya que usa metanol como inductor (Cos et al., 2006; H. He et al., 2019; Lohray et al., 2006). Este tipo de vectores, como el vector pPICZ α , que posee un gen de resistencia a la zeocina y es utilizado por su capacidad de expresión de proteínas heterólogas que se secretan en el medio de cultivo, son compatibles con estas levaduras (L. S. Castro et al., 2021; Karbalaei et al., 2020; Yabin et al., 2016).

Limitaciones de la producción en *Pichia pastoris*.

P. pastoris también es capaz de realizar la O-glicosilación de las proteínas secretadas pero este patrón es diferente al de los mamíferos, sin embargo, al intentar usar un inhibidor o un inactivador para frenar este proceso, esto desembocó en la producción de células no viables a pesar de su mejora en la glicosilación (H. He et al., 2019; Serrano-Rivero et al., 2016; Yabin et al., 2016).

Producción en células de mamíferos

Producción en células de mieloma murino

Las células de mieloma murino con frecuencia provienen de ratones BALB/c ya que esta cepa es mucho más susceptible (70-80%) a la inducción de tumores mediante agentes

proinflamatorios (Castellanos Esparza & Jiménez Zamudio, 2010). De acuerdo a resultados anteriores en la producción de IFN- α , se ha visto que la glicosilación se puede producir en otros tipos de células, pero esta es del tipo inmunogénico por lo cual se sugiere a las células de mamíferos como huéspedes preferidos para la producción de IFN glicosilado (Durocher Yves et al., 2009; Fulcher & Fulcher, 2012).

Se han utilizado células NSo de mieloma murino para la producción de varios IFNs recombinantes humanos ya que de esta manera se puede producir IFN- α glicosilado y biológicamente activo (Durocher Yves et al., 2009). En el estudio realizado por Rossman et al. (1996) se vio la producción de 20 $\mu\text{g}/10^6$ células/24h (en total 120mg/mL) de IFN- α 2b en una línea celular de mieloma de ratón utilizando el plásmido pEE12.IFN α 2b que contenía la secuencia del IFN, un promotor temprano inmediato del citomegalovirus humano y el gen de la glutamina sintetasa como marcador seleccionable. Estas células crecieron en medio DMEM y el interferón fue recogido del medio para finalmente ser purificado eficazmente en una columna de anticuerpos específicos de IFN- α antihumano bovino (L. S. Castro et al., 2021; Duguet et al., 2021; Rossmann et al., 1996).

Limitaciones de la producción en células de mieloma murino.

La expresión de IFN- α humano en líneas celulares de mamíferos suele dar como resultado una heterogeneidad importante en los restos de glucano, la calidad del producto suele ser inconsistente y con un alto costo de producción (Katla et al., 2019). Además la productividad volumétrica de las células para determinadas proteínas como las citoquinas, en este caso para IFN- α , es a menudo menor en comparación con otros métodos (Durocher Yves et al., 2009).

Producción a partir de células linfoblastoides y leucocitos humanos

Se han realizados varios estudios donde se sostiene que los IFNs derivados de fuentes naturales, como los de células linfoblastoides humano y los de leucocitos de sangre periférica humana están compuestos de múltiples especies, cada una con diferente actividad estructural y biológica (S. F. Li et al., 2018; Stankovic et al., 2011). Por esto, algunos investigadores consideran que estos IFNs "naturales" proporcionan una eficacia terapéutica mejor que el recombinante (H. Li et al., 2020; Testa et al., 1993). En este caso, se proporciona una nueva composición mejorada de IFN- α caracterizada por una alta actividad específica, una pureza superior al 95% y que, tras su uso en humanos, se caracteriza además por una reducción sustancial de los efectos secundarios que se suelen asociar con las composiciones de IFN- α (Testa et al., 1993).

Para poder realizar este proceso se debe realizar la inducción de producción del IFN- α N3 a partir de suspensiones de leucocitos de sangre periférica humana (PBL) infectados con el virus Sendai (Bassily et al., 1998; Testa et al., 1993). De acuerdo con este proceso de inducción, la sangre se extrae de donantes humanos sanos y los PBL se preparan mediante la recolección de capas leucocíticas y la lisis de glóbulos rojos con cloruro de amonio (Bassily et al., 1998). Posterior a esto los leucocitos se suspenden en un medio de inducción a una densidad celular óptima de 4×10^6 células/mL y se deja los cultivos en incubación durante 15-16 horas a 36°C. Por último, se centrifugan o filtran estos cultivos a través de sistemas de filtros de cartucho de tamaño de poro de 0,1 μ y el sobrenadante de IFN- α bruto resultante se concentra luego entre 10 y 100 veces, usando un sistema de filtro de flujo tangencial (Testa et al., 1993).

Para la obtención de IFN- α N1 a partir de células linfoblastoides se parte de la línea celular Cellosaurus Namalwa de linfoma de Burkitt humano (CVCL_0067) (Zoon et al., 1978). En este proceso se utiliza el medio RPMI1640 con 25mM de Hepes (ácido N-2-

hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico) complementado con suero fetal bovino (FBS) inactivado por calor (56°C, 30 minutos) al 10% (Ahmad et al., 2018). También se añade penicilina (100U/ml) y estreptomicina (100 g/ml) al medio. Los cultivos celulares se establecen en una concentración inicial de 2×10^5 a 3×10^5 células/mL de medio y los cultivos se incubaron a 37°C (De Maeyer et al., 1982; M. D. Johnston, 1981). Posterior a esto se infectaron las células con el virus de Sendai para inducir la producción de IFN. Se recogieron los fluidos de cultivo y se eliminaron las células de Namalwa mediante centrifugación a 1250xg durante 10 min (Lazar et al., 1981; Zoon et al., 1978). El fluido sobrenadante se ajustó a pH 2 mediante la adición de ácido clorhídrico y se mantuvo a 4°C durante la noche. Este procedimiento destruyó la infectividad viral residual, así como la capacidad del virus para inducir interferón (Finter, 1986; M. D. Johnston, 1981).

El IFN- α concentrado crudo obtenido de las etapas mencionadas con anterioridad se pasa a través de una primera cromatografía en columna (una columna de afinidad de anticuerpos NK2), a partir de la cual se eluye el producto a pH 2 después de un lavado extenso (Testa et al., 1993). Esta cromatografía de afinidad de anticuerpos se realiza para eliminar la mayoría de las proteínas del suero humano y otras impurezas; la molécula se purifica 8.000 veces a partir de este paso (Bassily et al., 1998). La pureza final del IFN suele ser mayor al 90% (Bassily et al., 1998) y la ventaja más significativa de usar este IFN natural como agente terapéutico es su baja inmunogenicidad en pacientes que lo reciben como tratamiento (Testa et al., 1993). Este proceso se mantuvo hasta finales del siglo 20 cuando se empezaron a usar procesos iterativos de técnicas cromatográficas con diferentes principios de separación aplicadas para el aislamiento y purificación de IFNs (L. S. Castro et al., 2021).

Limitaciones de la producción a partir de células linfoblastoides y leucocitos humanos.

Una de las limitaciones de este proceso de producción es la necesidad de mantener un riguroso control sobre los principales factores que afectan de forma significativa la cantidad de IFN- α leucocitario producido a partir de los PBL. Estos son: la densidad de las células durante la inducción, la concentración de bicarbonato de sodio y la composición del medio, la concentración de suero, el volumen de los cultivos en matraces, la velocidad de agitación, la temperatura y la concentración y características del virus Sendai utilizado (Bassily et al., 1998; Testa et al., 1993).

Otro inconveniente en el proceso de obtención de IFN- α a partir de PBL es la obtención de la sangre suficiente para llevar a cabo la producción a gran escala. La cantidad de sangre que se puede extraer de un donante alcanza para la preparación de entre 80 a 150 ml de IFN crudo, lo cual es una cantidad muy baja. Además el número limitado de donantes y las infecciones existentes hoy en día en la población por virus hematogénicos (virus de hepatitis B, C, E, VIH, etc.) limita la cantidad de IFN- α natural que se podría producir (Bassily et al., 1998). En el caso específico del IFN- α linfoblastoide se debe tomar en cuenta la concentración celular y del virus, la "edad" de las células inducidas, por su efecto sobre la fluctuación de los rendimientos de IFN y la concentración de FBS, que se espera sea mínima para facilitar la purificación (L. S. Castro et al., 2021; Lazar et al., 1981).

Producción en sistemas libres de células

El sistema de síntesis de proteínas sin células (CFPS) es una herramienta simple, rápida y sensible que carece de barreras unidas a la membrana, pero que contiene todos los sustratos necesarios, las biomoléculas y toda la maquinaria necesaria para la síntesis

de una proteína de interés (Herrera-Sepúlveda, 2008; Khambhati et al., 2019). En el estudio realizado por El-Baky y colaboradores (2011), se planteó como objetivo sintetizar el IFN- α de consenso humano (cIFN- α) en un sistema de expresión de proteínas libres de células utilizando los componentes de lisados celulares crudos de *Escherichia coli* (El-Baky et al., 2011; Khambhati et al., 2019). Se clonó utilizó el gen de cIFN- α en el vector pET101/D-TOPO que contiene: una secuencia Shine-Dalgarno (SD), el gen de interés y el promotor T7; además el sistema se comprobó usando una construcción estándar con el gen de la proteína verde fluorescente (GFP) en el vector pIVEX2.3; también bajo el control transcripcional del promotor T7. Para recuperar la proteína se utilizó un sistema de purificación en resina de ácido níquel-nitrilotriacetato (Ni-NTA) obteniendo un cIFN- α biológicamente activo con un rendimiento de 400 μ g/mL de solución de reacción sin células, cabe mencionar que el cIFN- α resultante es biológicamente activo (El-Baky et al., 2011; EL-Baky et al., 2015).

Limitaciones de la producción en sistemas libres de células

A pesar de que los sistemas libres de células provenientes de la maquinaria de *E. coli* son sencillos de preparar, se siguen presentando dificultades similares a las del sistema de expresión en las propias células. Este sistema de producción no posee ningún sistema de glicosilación natural y puede ser difícil plegar de forma adecuada proteínas complejas de mamíferos para lo cual se requeriría optimizar las condiciones para cada uno de los productos por separado (Zawada, 2011; Zemella et al., 2015).

Glicosilación dentro de los procesos de producción

La glicosilación es un proceso enzimático postraduccional que se basa en la adición de carbohidratos a una proteína cuyo destino es ser secretada o formar parte de la superficie celular (Khambhati et al., 2019; Pérez-Cerdá et al., 2015). Este proceso se lleva a cabo en el sistema del Retículo Endoplásmico y Aparato de Golgi. La glicosilación influye

en los procesos de solubilidad, estabilidad, actividad biológica y vida media en plasma, el plegamiento de proteínas, el destino de esta en los compartimentos intracelulares y en las interacciones entre las células (Del Carmen Jiménez Martínez et al., 2002; R. López et al., 2008). Dentro de la producción de proteínas recombinantes, dependiendo del sistema de expresión que se utilice se podrá o no obtener una proteína glicosilada ya en levaduras y células de mamíferos, los procesos postraduccionales se pueden llevar a cabo, aunque no sean iguales a los humanos, mientras que en células como bacterias esto no es posible (Farmacéutica Mexicana et al., 2006).

En el IFN- α nativo se da el proceso de glicosilación mientras que en el IFN- α humano recombinante y sus pegilados no (Del Rosario & García, 2001; GEMA Biotech, 2017). En los diversos sistemas de expresión existentes no es posible lograr una glicosilación igual a la que se da en células humanas. Esto se debe a que el repertorio de glucanos que una célula es capaz de sintetizar depende en gran medida de las enzimas glucosiltransferasa y glucosidasa que es capaz de expresar y de su actividad relativa, así como de la disponibilidad de otros requisitos (Brooks, 2004). En las células humanas, las proteínas se glicosilan de manera diferente bajo distintas condiciones durante el desarrollo, la diferenciación y en estados patológicos (Losev et al., 2020). La glicosilación de células en cultivo puede diferir significativamente de la situación *in vivo*, no todos los sitios de glicosilación potenciales en el esqueleto polipeptídico de una proteína están glicosilados y una variedad de estructuras de glucanos diferentes se pueden unir al mismo sitio para moléculas de glucoproteína por lo demás idénticas (Brooks, 2004; Riccetti et al., 2019). Además, en cualquier momento, un organismo puede sintetizar una variedad de versiones glicosiladas de manera diferente, denominadas glicoformas, de la misma glicoproteína (Khan et al., 2016; Zacchi & Schulz, 2015).

Las células de muchas especies no humanas glucosilan proteínas de forma muy diferente o no realizan este proceso pues no poseen la maquinaria necesaria para la glicosilación de tipo humano: glicosidasas específicas, glicosil transferasas, donantes de azúcar o en el caso de las células procarióticas, el RE y el aparato de Golgi (Everest-Dass et al., 2018; Kizuka & Taniguchi, 2016; Schjoldager et al., 2020). Otras unen sus proteínas con glucanos que contienen grupos químicos, monosacáridos o enlaces entre monosacáridos nunca vistos en conjugados humanos y, estos son altamente inmunogénicos y se eliminan rápidamente del organismo (Brooks, 2004; Ravcheev & Thiele, 2017; Serrano-Rivero et al., 2016).

En el caso del IFN- α , la glicosilación no es imprescindible para la que la proteína realice su acción farmacológica ya que se ha demostrado que, aún sin glicosilar, esta mantiene su actividad (Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, 2018). En la investigación realizada por Johnston, et al. (2011), que en la evaluación de la estabilidad térmica de IFN- α 2b e IFN- α 2b glicosilado, se reveló que el IFN no glicosilado era más estable a las variaciones térmicas que la variante glicosilada. Además, luego de la desglicosilación enzimática del IFN- α 2b este mostró una estabilidad térmica mejorada demostrando que la glicosilación disminuye la estabilidad térmica de IFN- α 2b en comparación con la otra variante (M. J. W. Johnston et al., 2011). Esto es importante ya que la estabilidad térmica se considera como una indicación del correcto pliegue proteico y la estabilidad conformacional de la proteína lo que nos ayuda a establecer su actividad biológica (Balchin et al., 2016; M. J. W. Johnston et al., 2011). Hoy en día se utiliza la pegilación como un “método a prueba de fallos” ya que, con esto se le adjudican al IFN propiedades como: retardar su tiempo de eliminación en el organismo, incrementar su solubilidad y reducir su inmunogenicidad y su agregación (agrupación de proteínas) (N Ceaglio et al., 2008; R. López et al., 2008; Xu et al., 2018).

Comparación entre los diferentes métodos de producción

A continuación, en la **Tabla 9**, se presentará de manera resumida una comparación entre los métodos de producción de IFN- α recombinante descritos con anterioridad.

Tabla 9.

Ventajas y desventajas de los diferentes sistemas de expresión de IFN- α recombinante

Sistemas de expresión		Ventajas	Desventajas
<i>E. coli</i>		<ul style="list-style-type: none"> • Tasa rápida de crecimiento. 	<ul style="list-style-type: none"> • No son posibles modificaciones postraduccionales.
		<ul style="list-style-type: none"> • Costo bajo de producción. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se dan cuerpos de inclusión.
		<ul style="list-style-type: none"> • Alto rendimiento. 	
		<ul style="list-style-type: none"> • Segura para procesos de fermentación • Fáciles de aislar. 	
Otros sistemas	<i>T. reesei</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Alta capacidad de producir proteínas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Posible producción de proteasas fúngicas.
	<i>Y. lipolytica</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Realizan modificaciones postraduccionales. 	<ul style="list-style-type: none"> • Necesidad de sistemas avanzados de cultivo.
	<i>P. pastoris</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Alta viabilidad celular. • Insensible a acción inhibidora del IFN. • Crecimiento celular rápido. 	<ul style="list-style-type: none"> • Puede darse hiperglicosilación.
Células de mamíferos	células de mieloma murino	<ul style="list-style-type: none"> • Buen plegamiento de proteínas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Dificultad al obtener la materia prima.
	Células linfoblastoides	<ul style="list-style-type: none"> • Se da la glicosilación. • Alto rendimiento de expresión de proteínas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Costo de producción muy elevado. • Técnicas de cultivo complejas.
	Leucocitos Humanos	<ul style="list-style-type: none"> • Proteínas más estables. • Secreción extracelular de proteínas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Obtención de cepas específicas es complejo.

	<ul style="list-style-type: none"> • Productos obtenidos de “buena calidad”. 	
Sistemas libres de células	<ul style="list-style-type: none"> • Permite controlar el microambiente de reacción para promover el plegamiento. • Mejora la solubilidad de las proteínas • Maximiza el rendimiento proteico. • Purificación en un solo paso. <ul style="list-style-type: none"> • Funcionalidad preservada, con proteínas de longitud completa. 	<ul style="list-style-type: none"> • Poseen las limitaciones a nivel postraduccional de las células de la que provengan. • Estos sistemas de expresión no se han optimizado exceptuando <i>E. coli</i>.

Nota. Obtenido de (Algirdas, 2011; Baghban et al., 2019; Bassily et al., 1998; Casablanca et al., 2018; Durocher Yves et al., 2009; El-Baky et al., 2011; El-Baky & Redwan, 2015; Farmacéutica Mexicana et al., 2006; Fitz et al., 2018; Gasmi, Ayed, Ammar, et al., 2011; Khambhati et al., 2019; Landowski et al., 2016; Rantasalo et al., 2019; Singh et al., 2015; Testa et al., 1993; Zemella et al., 2015)

Actividad Antiviral

El IFN- α juega un papel fundamental en la respuesta inmune innata contra las infecciones virales al inducir mecanismos moleculares de restricción viral y al limitar la propagación de la infección, pero también al orquestar las fases iniciales de la respuesta inmune adaptativa e influir en la calidad de la inmunidad de las células T (J Bekisz et al., 2010; Boasso, 2013). Una vez secretado, el IFN- α empieza una cascada de señal como se mencionó en apartados anteriores (IFN Tipo I) para formar el factor 3 del gen estimulado

por IFN, que a su vez se une a los elementos de respuesta estimulados por esta molécula para activar la transcripción génica (Samuel, 2001). Entre los genes inducibles por IFN, la proteína quinasa activada por ARN (PKR), las 2', 5'-oligoadenilato sintetetasas y las proteínas Mx se han estudiado particularmente bien con respecto a sus actividades antivirales (Battcock et al., 2020).

PKR es una quinasa dependiente de ARN, que se autofosforila después de unirse al ARN bicatenario (ARNdc) generado durante la infección viral (Cesaro et al., 2021). La PKR activada puede fosforilar directamente proteínas celulares seleccionadas, como la subunidad α del factor 2 de iniciación de la traducción eucariota (eIF2 α), lo que conduce a la inhibición de la síntesis de proteínas víricas (Chang et al., 2017; Tang et al., 2018). Similar a PKR, la 2', 5'-oligoadenilato sintetasa también es activada por dsRNA y genera 2', 5'-oligoadenilatos (2-5A). Las moléculas 2-5A, a su vez, se unen y activan la RNAsa latente, RNAsa L, lo que resulta en la degradación del ARN y la inhibición de la replicación del virus (Babaeipour et al., 2013; Chang et al., 2017).

Las proteínas Mx inducidas por IFNs, identificadas por primera vez como proteínas contra el virus de la influenza, son miembros de la superfamilia de guanosina trifosfatasa similares a dinamina (GTPasas) (Haller & Kochs, 2019). El mecanismo antivírico de estas es poco conocido, sin embargo, la mayor parte de la evidencia experimental hasta la fecha apoya un modelo en el que las proteínas Mx bloquean el transporte de la nucleocápside viral o la síntesis de ARN viral, según su localización (Battcock et al., 2020; Haller & Kochs, 2019; Verhelst et al., 2013).

Se ha utilizado el IFN- α como el tratamiento antiviral preferido para los niños con hepatitis B crónica (HBC) mayores de 1 año (Hu et al., 2019). De acuerdo a estimaciones de la OMS, 257 millones de personas padecían infección crónica por este virus en 2015 (Organización Mundial de la Salud & OMS, 2020) por lo que el tratamiento con IFN es

recomendado en varios países. Se ha visto que la monoterapia antiviral, usando ya sea IFN- α 2b o PEG-IFN- α 2a, en niños con HBC es bien tolerada y eficaz, lo que se asocia con tasas más altas de seroconversión¹ y aclaramiento del antígeno de virus de la Hepatitis B (VHB) (Fan et al., 2019; Hu et al., 2019). Hoy en día los únicos medicamentos que pueden usarse en la actualidad para el tratamiento antiviral del VHB en niños son el IFN- α , incluido el IFN- α unido al el polietilenglicol (PEG-IFN- α) y algunos análogos de nucleósidos (Sokal et al., 2013).

Para dar por concluido las aplicaciones antivirales del IFN- α , esta molécula se aplica en el tratamiento de la infección causada por el virus de la hepatitis C (VHC), infección que el 3% de la población mundial padece y de los que, un aproximado de un 70-80%, terminarán por desarrollar una infección crónica y presentan el riesgo de desarrollar cirrosis hepática o carcinoma hepatocelular, puesto que se ha demostrado el poder oncogénico de este virus en seres humanos (Jaspe et al., 2016; Ringelhan et al., 2017). El IFN es uno de los pocos fármacos que ha demostrado cierta eficacia en la detención de la actividad replicativa vírica y de la progresión clínica e histológica de la infección crónica por VHC (Arús Soler et al., 2000), ya sea como monoterapia o como terapia combinada entre el IFN- α pegilado (PEG-IFN) y la ribavirina (RBV) (Jaspe et al., 2016). Además, gracias al tratamiento con IFN- α , se ha logrado mejorar los síntomas de afecciones secundarias que se presentan durante esta infección (Ortega García & Ortega González, 2016), un ejemplo de esto es la vasculitis leucocitoclástica (VL), también conocida por vasculitis por hipersensibilidad, en la que se presenta inflamación de pequeños vasos sanguíneos, en extremidades inferiores, y cuyos síntomas se han visto disminuidos en pacientes que han

¹ La seroconversión es la transición desde el inicio de la infección viral hasta la presencia detectable de anticuerpos contra ese virus en la sangre (Fan et al., 2019).

recibido tratamiento con IFN- α (Hernández-López et al., 2019; Ortega García & Ortega González, 2016).

Actividad antiproliferativa

El IFN- α puede promover múltiples efectos biológicos, incluida la inducción de la apoptosis y la inhibición del crecimiento celular. Además, esta citoquina promueve la diferenciación y actividad de las células inmunitarias del organismo (P et al., 2010; Pogue et al., 2017). Entre las vías celulares y moleculares identificadas hasta ahora, el IFN- α es uno de los componentes críticos para la respuesta inmune del huésped en contra de células tumorales, más específicamente para la activación de células dendríticas (DC) (Gardner & Ruffell, 2016; Veglia & Gabrilovich, 2017). Las DC son células presentadoras de antígenos (APC) que actúan como reguladores centrales del ciclo inmunológico antitumoral ya cuando estas se activan y migran a los ganglios linfáticos de drenaje (LN), adquieren un fenotipo completamente maduro (es decir, una alta expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad MHC) (Durai & Murphy, 2016; Murphy et al., 2016). Las DC luego transmitirán el mensaje recibido en el microambiente donde se encontró el antígeno, entregando señales tanto antigénicas (a través de MHC-I y MHC-II, debido a su capacidad de presentación cruzada) como coestimuladoras, a través de la membrana y moléculas secretadas, como CD80, CD86 e IL-12, respectivamente, para cebar células T vírgenes (Roberts et al., 2016; Saadeh et al., 2016; Salmon et al., 2016). Se ha demostrado que las respuestas inmunitarias espontáneas a las células tumorales dependen de la activación de las DC por los IFNs (Keirsse et al., 2017; Medrano et al., 2017).

Los IFNs se han investigado en gran medida para el tratamiento de diversos tipos de cáncer; uno de ellos es el carcinoma metastásico de células renales (CCRM), una neoplasia maligna para el que el tratamiento con IFN- α recombinante ha sido el más utilizado (Joshi et al., 2018; Miyake et al., 2009). Hoy en día se están realizando estudios

del uso combinado de bevacizumab (BEV) más IFN- α 2a como una opción para el tratamiento de primera línea del carcinoma metastásico de células renales por lo cual se están llevando a cabo ensayos clínicos Fase III para comparar su efectividad frente al uso de una monoterapia con IFN- α (Miyake et al., 2009; Schultze-Seemann et al., 2019).

Siguiendo la misma línea, el IFN- α está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) para el tratamiento del linfoma folicular (FL) en estadio avanzado. Este es el segundo linfoma no Hodgkin (LNH) más común en los países occidentales y representa un aproximado del 20% de los casos de LNH a nivel mundial (Casulo et al., 2017; Gribben, 2018). Para el tratamiento de esta condición médica se aplica en IFN- α en combinación con quimioterapia basada en antraciclinas, ya que con esta propuesta se ha visto una mejora en la supervivencia de los pacientes en comparación a los tratamientos donde solo se realiza quimioterapia (P. Baldo et al., 2010; Gribben, 2018).

Otro uso de las propiedades antiproliferativas del IFN- α es en el tratamiento del melanoma maligno. Este se administra a pacientes con melanoma maligno metastásico y a aquellos que están en riesgo de recurrencia después de una cirugía por lesiones de alto riesgo (Badgwell et al., 2004). El uso del IFN- α dio como resultado una mejora en la supervivencia libre de enfermedad y menor índice en casos de reincidencia (Long et al., 2017). Y, aunque se demostró un beneficio de supervivencia para los pacientes tratados con IFNs, realizando un análisis de los resultados de diversos ensayos clínicos, se encontró que la administración de IFNs, después de una extracción quirúrgica del tumor primario y en ausencia de metástasis, mejora la supervivencia de los pacientes con melanoma (Mocellin et al., 2013).

El cáncer de ovarios es otro tipo de cáncer que en el que se utiliza el IFN- α (El-Baky & Redwan, 2015). Esta afección con frecuencia se detecta cuando ya se ha expandido a la pelvis y el abdomen por lo que se vuelve más difícil tratar que si estuviera en un estadio

temprano, donde los tratamientos tienen más probabilidades de ser exitosos (Matulonis et al., 2016). La inmunoterapia con citoquinas como el IFN- α (IFN- α) e IFN gamma (IFN- γ) se ha utilizado de forma predominante por vía intraperitoneal en el cáncer de ovario, con resultados prometedores en lugar del tratamiento convencional con cirugía y quimioterapia (Green et al., 2016).

Por último, se tiene al Sarcoma de Kaposi, un tipo de cáncer asociado a la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH). Este es muy agresivo y se manifiesta con manchas y nódulos dispersos en miembros inferiores y tórax acompañado de edema; sin embargo, también puede extenderse al tracto gastrointestinal, ganglios, pulmón, conjuntiva ocular, hígado y bazo (Navarrete-Dechent et al., 2015). El IFN- α es utilizado de forma habitual como un fármaco de tercera línea² después de haber usado doxorubicina liposomal (DL) y paclitaxel (Hernández & Comegna, 2017).

Un caso único, en donde se yuxtaponen las actividades del IFN- α es en el tratamiento de la enfermedad causada por el Virus de Papiloma Humano (VPH) , este es uno de los principales virus transmitidos por vía sexual y cada uno de subtipos es capaz de infectar a las células epiteliales del tracto genital humano y otras áreas como la conjuntiva, la piel de manos y pies, la boca, y la orofaríngea, además de ser la primera causa de cancer de cervix (Baladrón et al., 2012; Joseph Bekisz et al., 2003; Maunsell & Bellomo-Brandão, 2017). Aunque la mayoría de las infecciones por VPH se resuelven dentro de un término menor de 2 años, algunos tipos virales, en particular el VPH16, pueden persistir por décadas y originar diferentes tipos de cáncer, siendo el cervical el más común (Páez B et al., 2016; Toro-Montoya & Tapia-Vela, 2021). Una variedad de tratamientos se encuentran disponibles para esta afección como el uso del IFN- α 2b Humano recombinante y la

² Son terapias aprovechadas cuando el tratamiento aceptado como de primera y segunda línea ha fracasado ya sea por la terapia misma o por eventualidades en el paciente que imposibilitan su empleo (Hernández & Comegna, 2017).

podofilina que han demostrado su efectividad y seguridad a través de ensayos clínicos aleatorizados y controlados con placebo (Baladrón et al., 2012). Hoy en día se recomienda el uso del IFN- α 3 para tratar las verrugas que ocurren en el exterior del cuerpo en personas que tienen al menos 18 años (AIM ImmunoTech, 2015).

Eficacia clínica del IFN- α y su aplicación fármaco terapéutico

Dentro de la industria farmacéutica, el significativo efecto antiviral que presenta el IFN- α junto con su potencial actividad antitumoral condujo a su fabricación a gran escala para ensayos clínicos y su evaluación en enfermedades de este tipo, como se presenta en la **Tabla 10** (Dejuq et al., 1995; El-Baky & Redwan, 2015). Hoy en día, el uso de IFN- α está aprobado para el tratamiento de afecciones que van desde infecciones virales a diversos tipos de cáncer (El-Baky & Redwan, 2015; Eto et al., 2013). Existen solo seis formulaciones de IFN- α aprobadas por la FDA para el tratamiento de las enfermedades mencionadas (Food and Drug Administration, 2006). Todos estos, a excepción del Alferon N que proviene de suspensiones de leucocitos humano, son formulaciones realizadas en de la fermentación bacteriana de cepas de *Escherichia coli* genéticamente modificadas. Se tienen dos formulaciones de IFN- α no aprobadas por la FDA (Welferon y Heberon Alfa) también utilizadas como tratamiento de varias enfermedades como se detalla en la **Tabla 11**. Es común que estos fármacos se administren por vía subcutánea o intramuscular aunque dependiendo de la recomendación del médico pueden utilizarse otras vías como se detalla en la **Tabla 10** (Joseph Bekisz et al., 2003).

Tabla 10.

Formulaciones de IFN- α existentes y su sistema de producción.

Nombre de fármaco	IFN	Vía de administración	Sistema de producción
Alferon N	IFN- α N3	II	Leucocitos Humanos
Intron-A	IFN- α 2b	im, sc, iv, il	<i>Escherichia coli</i>
Roferon	IFN- α 2a	im, sc	<i>Escherichia coli</i>
Pegasys	PEG-IFN- α 2a	Sc	<i>Escherichia coli</i>
Pegintron	PEG-IFN- α 2b	Sc	<i>Escherichia coli</i>
Sylatron	PEG-IFN- α 2b	Sc	<i>Escherichia coli</i>
Welferon	IFN- α N1	Im	Células linfoblastoides
Heberon Alfa	IFN- α 2b	im, iv, sc, il	<i>Escherichia coli</i>

Nota. il intralesional, sc subcutánea, im intramuscular, iv intravenosa. Información obtenida de (Joseph Bekisz et al., 2003; Center for Drug Evaluation and Research, 2014; Food and Drugs Administration, 2011b, 2011a; Hoffmann- La Roche, 2014; Testa et al., 1993).

Se realizó una comparación de todas las aplicaciones mencionadas con anterioridad de acuerdo al IFN utilizado y su tasa de respuesta por tratamiento como se presenta a continuación. Se puede apreciar la mejora en estas afecciones mediante el uso de IFN- α como fármaco de elección.

Tabla 11.

Eficacia del tratamiento con IFN- α humano dentro de varias enfermedades.

Función	Enfermedad	Fármaco recomendado	Dosis recomendada	Tasa de respuesta al tratamiento con IFN-α
Antiviral	Hepatitis B crónica (HBC)	Intron-A	5 MUI SC/IM 3 veces/semana durante 20 semanas	88,9%, de los pacientes dieron negativo para VHB.
		Roferon	3 MUI SC 3 veces/semana	
		Welferon	3 MUI SC/IM 3 veces/semana	
		Pegasys	3 MUI SC 3 veces/semana	
	Hepatitis C crónica	Intron-A	3 MUI SC/IM 3 veces/semana durante 16 semanas	57,9% de los pacientes respondieron de forma favorable al tratamiento.
		Roferon	3 MUI SC 3 veces por semana	
		Welferon	3 MUI SC/IM 3 veces/semana	
		Pegasys	6 MUI SC 3 veces/semana	
		Pegintron	3 MUI SC 3 veces/semana	
Virus del Papiloma Humano	Alferon N	5 MUI 2 veces/semana	Respuesta favorable al tratamiento en el 81,5 % de los pacientes.	
	Heberon Alfa	10 MUI IM 2 veces/semana		
Antiproliferativa	carcinoma metastásico de células renales (CCRM).	Roferon	3-18 MUI 3 veces/semana	13,8% de los pacientes tuvieron una respuesta favorable al tratamiento.
	Linfoma folicular	Intron-A	5 MUI 3 veces/semana.	50% pacientes mostraron mejoría y 37,5% alcanzaron la remisión completa (en

Función	Enfermedad	Fármaco recomendado	Dosis recomendada	Tasa de respuesta al tratamiento con IFN-α
				tratamiento combinado con quimioterapia).
	Carcinoma de ovario	Intron-A	5 MUI 3 veces/semana.	53% tuvieron una respuesta favorable (remisión completa o parcial)
	Melanoma maligno	Sylatron	20 MUI/ m ² IV durante 20 min, 5 días/semana durante 4 semanas.	60% de los pacientes presentaron una mejoría significativa en la supervivencia libre de enfermedad.
		Intron-A	30 MUI IM/SC 3 veces/semana durante 16 semanas	100% de los pacientes presentaron una estabilidad de la enfermedad.
	Sarcoma de Kaposi	Roferon	3-54 MUI SC diarias	

Nota. Elaborado por Troya, L. MUI: Millones de unidades de Interferón; IM: intramuscular; SC: subcutáneo; IV: intravenoso. Obtenido de: (Arús Soler et al., 2000; Baladrón et al., 2012; Joseph Bekisz et al., 2003; Cox et al., 2018; Eto et al., 2013; Food and Drugs Administration, 2011b; Hernández & Comegna, 2017; Hoffmann- La Roche, 2014; Hu et al., 2019; Mocellin et al., 2013; Willemse et al., 1990).

Efectos secundarios del uso de IFN- α

Se cree que muchos de los síntomas asociados con las infecciones virales agudas son causados por interferones que se producen en grandes cantidades durante la infección, por otro lado, los síntomas pueden reproducirse después de la administración parenteral de IFN exógeno (Strannegård, 1999). Los efectos secundarios más comunes (cerca del 30% de los pacientes) del tratamiento con IFNs suelen ser síntomas "similares a la influenza" como: fiebre, escalofríos, náuseas, fatiga, mialgia y pérdida de apetito. Estos son eventos esperados que ocurren en la mayoría de los sujetos, con una gravedad que depende de la dosis utilizada, sin embargo, estos efectos secundarios suelen mostrar una tendencia a ser menos graves con el tiempo y suelen ser tolerables (Gill et al., 2018; Miyake et al., 2009; Sleijfer et al., 2005).

Otros efectos secundarios incluyen depresión mental, alopecia y pérdida de peso lo que provoca la interrupción del tratamiento con IFNs por el bienestar del sujeto (Chemocare, 2012). Se ha visto que en un estudio realizado por Su, et al. (2019), que el uso de IFN- α viene asociado con un riesgo significativo de episodios depresivos mayores (MDE o depresión inducida por IFN- α); puesto que se asoció de forma significativa la depresión inducida por IFN- α con más síntomas somáticos y menos síntomas de estado de ánimo, ansiedad y cognición negativa. Además, se encontraron también síntomas somáticos en aquellos que se deprimieron en la etapa inicial de la terapia con IFN- α (El-Baky & Redwan, 2015; Gill et al., 2018; Schau et al., 2019; Su et al., 2019).

Las respuestas exageradas del eje hipotalámico-pituitario-adrenal (HPA) se han asociado con la depresión durante la terapia con IFN- α , lo que sugiere que las respuestas neuroendocrinas sensibilizadas, incluida la hormona liberadora de corticotropina (CRH), pueden representar una vía vulnerable a los síntomas neuropsiquiátricos inducidos por IFN- α (Fonseca et al., 2020; Zahi & Rimbabas, 2014). Por otro lado, el IFN- α es un potente

activador de la red de citocinas inflamatorias (Gohier et al., 2009; Pestka et al., 2004). Además, estimula la expresión de interleucina 1 (IL1), interleucina 6 (IL6) y factor de necrosis tumoral alfa (il- α) (Wachholz et al., 2016). Todas estas son citocinas proinflamatorias (IFN- α , IL1, IL6 y TNF- α) y también han demostrado modular el estado de ánimo, el comportamiento y el ciclo de sueño-vigilia, dando respuesta a los diversos resultados adversos que se presentan en el tratamiento con IFN- α (Davies et al., 2020).

Se sabe que cuanto mayor sea la dosis, mayor será la incidencia y la fuerza con la que se presentan estos efectos secundarios (Joseph Bekisz et al., 2003). Aunque se ha visto que en comparación de los interferones producidos en *E.coli*, los interferones producidos en células de organismos superiores, las cuales tiene una maquinaria celular similar a los mamíferos, presentan una menor intensidad en la respuesta inmunogénica al aplicar la misma dosis del IFN como se muestra en la **Tabla 12** (El-Baky et al., 2015; Testa et al., 1993).

Interacción con otros fármacos

A pesar de que no se han evaluado de manera plena las posibles interacciones entre los IFNs y otros medicamentos se recomienda tener precaución en la administración de esta molécula en combinación con otros agentes con que actúen como mielosupresores ya que los IFNs pueden afectar los procesos metabólicos oxidativos (Agencia Europea de Medicamentos, 2010; Quintero & Ruiz, 2018). Esto deberá tenerse en cuenta durante el tratamiento concomitante con medicamentos que se metabolizan por esta vía, como los derivados de la xantina, teofilina o aminofilina (Asociación Española de Pediatría, 2018; Quintero & Ruiz, 2018).

Tabla 12.*Efectos secundarios reportados por formulación de interferón.*

Formulación	Muy común Más del 10%	Común Del 1 al 10%	Poco común 0,1 al 1%	Fuente
Alferon N	Enfermedad tipo gripal Trastornos gastrointestinales Leucopenia Cefalea	Trastornos de la piel Trastornos neurológicos / psiquiátricos Trombocitopenia		(Ma, 2012; Mancano, 2013; Shrestha et al., 1995)
Intron-A	Trastornos neurológicos / psiquiátricos Cefalea Enfermedad tipo gripal Trastornos de la piel Trastornos gastrointestinales			(European Medicines Agency, 2006, 2010; Sedano & Serra, 2003)
Roferon	Enfermedad tipo gripal Trastornos neurológicos / psiquiátricos Cefalea Trastornos de la piel Trastornos gastrointestinales Pérdida de peso	Neutropenia		(Czerwionka-Szaflarska et al., 2000; HPRA & Roche, 2015; Roche & PSUR, 2012)
Pegasys	Enfermedad tipo gripal Cefalea Fatiga Pérdida de peso Trastornos gastrointestinales Trastornos neurológicos / psiquiátricos Trastornos de la piel Depresión	Neutropenia Anemia		(European Medicines Agency, 2005)
Pegintron	Enfermedad tipo gripal Cefalea Trastornos neurológicos / psiquiátricos	Neutropenia	Trombocitopenia	(B. A. Baldo, 2014; CHMP & EMA, 2010;

Formulación	Muy común Más del 10%	Común Del 1 al 10%	Poco común 0,1 al 1%	Fuente
	Trastornos de la piel Anemia			European Medicines Agency, 2005)
Sylatron	Enfermedad tipo gripal Cefalea Trastornos gastrointestinales Depresión Pérdida de peso			(Green et al., 2018; J. Huang et al., 2019)
Welferon	Enfermedad tipo gripal Cefalea Trombocitopenia Trastornos gastrointestinales			(Czerwionka-Szaflarska et al., 2000; Reichman et al., 1988)
Heberon Alfa	Enfermedad tipo gripal Cefalea Escalofríos Trastornos gastrointestinales Anemia Trastornos neurológicos / psiquiátricos	Leucopenia Trastornos de la piel Pérdida de peso	Neutropenia	(Nodarse-Cuní & López-Saura, 2017)

Nota. Elaborado por Troya, L. *Enfermedad tipo gripal:* fiebre, rinitis, tos, cansancio y malestar general; *Trastornos neurológicos / psiquiátricos:* irritabilidad, depresión, somnolencia, insomnio; *Trastornos de la piel:* alopecia, manchas en la piel, salpullido, prurito; *Trastornos gastrointestinales:* náuseas, vómito, diarrea, anorexia.

Los fármacos narcóticos, hipnóticos o sedantes deberán administrarse con precaución en su empleo concomitante con los interferones (Asociación Española de Pediatría, 2018). En pacientes tratados con IFN- α , incluidos los pacientes tratados con Intron-A, se han observado en raras ocasiones infiltrados pulmonares, neumonitis y neumonía, a veces con resultado fatal (Agencia Europea de Medicamentos, 2010). Por otro lado, se ha visto que la administración de Interferones en combinación con otros agentes quimioterapéuticos (por ejemplo, Ara-C, ciclofosfamida, doxorubicina, tenipósido) puede conducir a incrementar el riesgo de toxicidad (Agencia Europea de Medicamentos, 2010; I. Castro et al., 2003; Quintero & Ruiz, 2018).

Con todo esto, se puede afirmar que los efectos secundarios del interferón alfa son dosis-dependientes (Arnaud, 2002; Dusheiko, 2003), sin embargo el uso de sistemas de expresión en células de organismos superiores dio como resultado menor incidencia y variedad en los efectos secundarios, en base a esto se puede concluir que el sistema de expresión juega un papel importante en la generación de efectos secundarios. Las moléculas producidas en bacterias deberían pasar por un procedimiento de optimización de codones para generar una molécula similar al IFN nativo (Vu et al., 2016), además esta molécula luego debe pasar por un proceso de conjugación química con PEG para mejorar el tiempo de vida media y disminuir el aclaramiento renal (Asmuth et al., 2010; C. Castro, 2018; Olivier et al., 2002). Si bien esto es una ventaja se ha establecido al inicio del artículo que PEG es inmunogénico pues, en numerosos estudios durante la última década se ha demostrado que la presencia de PEG provoca reducciones significativas en la administración de fármacos, incluida una unión mejorada a proteínas séricas, una captación reducida por las células diana y la activación de una respuesta inmunitaria que facilita la eliminación *in vivo* (Lin & Young, 2014; Verhoef & Anchordoquy, 2013). Además, el enlace entre IFN- α 2b y PEG puede sufrir hidrólisis, lo que deja a la molécula de IFN libre y pasa

por un el proceso de eliminación natural al poco tiempo de haber ingresado al organismo (Quintero & Ruiz, 2018). También se sabe que los interferones actúan con lentitud, sobre todo en infecciones virales agudas, y no son es sitio-específicos por lo cual es necesaria una mayor cantidad de interferón para conseguir el efecto deseado en el tratamiento (Chapman et al., 1991; Costa et al., 2018; Gull et al., 2019). Por último, en el estudio realizado por Dusheiko (2003) se vio que las grandes cantidades de IFN empleadas en los tratamientos (dosis de más 5 millones de unidades tres veces por semana) causan tasas más altas de eventos adversos que con dosis menores o en los casos que se aplica una sola.

Capítulo V: Conclusiones

- La bacteria *E. coli* es la plataforma de producción para proteínas recombinantes más utilizada debido a sus bajos requerimientos en el proceso de producción, el IFN- α no necesita modificaciones postraduccionales.
- *E. coli* aumenta con éxito la producción de IFN- α soluble al eliminar el sesgo de codones mientras se utilizan versiones optimizadas de codones de genes diana
- La cepa de mayor producción descrita hasta la fecha es la JM109(DE3) con el vector pET-9 y promotor T7 que expresa la mayor cantidad de IFN- α total producida de 500 mg/L.
- Los efectos secundarios durante un tratamiento con IFNs son dependientes de la dosis y del sistema de producción del que proviene.
- Los IFNs producidos en leucocitos humanos y células linfoblastoides presentan una menor intensidad en la respuesta inmunogénica que los producidos en *E. coli*, no obstante, esta es la cepa que más se utiliza para la producción de esta molécula.
- La glicosilación no es imprescindible para la acción farmacológica de la proteína porque no tiene un rol funcional

Capítulo VI: Recomendaciones

- Disminuir los costos de producción en sistemas de expresión como levaduras o células de mamíferos, ya que esto disminuiría los efectos secundarios que el fármaco produce, disminuyendo el porcentaje de abandono del tratamiento.
- Realizar nuevas revisiones sistemáticas enfocadas a los procesos moleculares utilizados para la producción de IFN- α , relacionando la aplicación clínica y la farmacovigilancia.

Capítulo VII: Bibliografía

- Aamir, S., Ullah, D. Z., Iqbal, Z., Khan, A. A., Yaqub, F., & Malik, K. (2008). Cutaneous manifestations of interferon alfa and ribavirin for hepatitis C. *Journal of Pakistan Association of Dermatologists*, 18(1), 14–20. <http://www.jpap.com.pk/index.php/jpap/article/view/560>
- Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2015). Inmunología celular y molecular. In *Elsevier*.
- Agencia Europea de Medicamentos. (2010). ANEXO I FICHA TÉCNICA O RESUMEN DE LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO.
- Ahmad, J., Johnson, C., Edwards, V., & Rees, N. (2018). Does regulation drive science or does science drive regulation? In *Pharmacovigilance: A Practical Approach* (pp. 1–11). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-58116-5.00001-8>
- Aillot, L., Bonnin, M., Ait-Goughoulte, M., Bendriss-Vermare, N., Maadadi, S., Dimier, L., Subic, M., Scholtes, C., Najera, I., Zoulim, F., Lucifora, J., & Durantel, D. (2018). Interaction between Toll-like receptor 9-CpG oligodeoxynucleotides and hepatitis B virus virions leads to entry inhibition in hepatocytes and reduction of alpha interferon production by plasmacytoid dendritic cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 62(4), 1741–1758. <https://doi.org/10.1128/AAC.01741-17>
- AIM ImmunoTech. (2015, March 2). *Informe: Vuelve Alferon N contra las verrugas genitales; El Centro de Biología de Enfermedades Crónicas (CBCD) revisa el informe*. Online Press Release Distribution Service. <https://www.prweb.com/releases/2015/03/prweb12604988.htm>
- Algirdas, V. (2011). WO2011092367A1 - Procedimiento para la producción de interferón alfa 5 - Google Patents. <https://patents.google.com/patent/WO2011092367A1/es>
- Alvarado-Madrugal, M. F., Chavarría-Quirós, T., Leiva-Montero, B., & Mora-Román, J. J. (2019). Producción de proteínas recombinantes a partir de animales transgénicos: Sistemas y aplicaciones. *Revista Tecnología En Marcha*, 32, 133–144. <https://doi.org/10.18845/tm.v32i4.4798>
- Alvarado López, K. (2015). Uso de cocrisales para mejorar la solubilidad y velocidad de disolución de los fármacos. *Pensamiento Actual*, 15(25), 207–215.
- Ángel Galván-Morales, M., Sarmiento-Silva, R. E., & Eugenia Manjarrez-Zavala, M. (2013). www.medigraphic.org.mx Modulación de la síntesis de interferones en la infección por paramixovirus. In *Revisión Neumol Cir Torax* (Vol. 72, Issue 3). www.medigraphic.org.mx
- Aps, L. R. M. M., Tavares, M. B., Rozenfeld, J. H. K., Lamy, M. T., Ferreira, L. C. S., & Diniz, M. O. (2016). Bacterial spores as particulate carriers for gene gun delivery of plasmid DNA. *Journal of Biotechnology*, 228, 58–66. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.04.027>
- Arif, A., Gardner, Q.-T.-A. A., Rashid, N., & Akhtar, M. (2015). Production of human interferon alpha-2b in *Escherichia coli* and removal of N-terminal methionine utilizing archaeal methionine aminopeptidase. *Biologia* 2015 70:7, 70(7), 982–987. <https://doi.org/10.1515/BIOLOG-2015-0113>
- Arnaud, P. (2002). Different interferons: Pharmacology, pharmacokinetics, proposed mechanisms, safety and side effects. *Revue de Medecine Interne*, 23(SUPPL. 4). [https://doi.org/10.1016/S0248-8663\(02\)00659-8](https://doi.org/10.1016/S0248-8663(02)00659-8)
- Aronson, J. (2016). Interferon beta. *Meyler's Side Effects of Drugs*, 209–219. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53717-1.00901-X>
- Aronson, JK. (2016). *Meyler's Side Effects of Drugs, 15th Edition: The International Encyclopedia of Adverse Drug Reactions and Interactions*. 714–719.
- Arús Soler, E., Rivera Reimón, L., Fernández Naranjo, A., Infante Velázquez, M., Díaz, R., Soto Argüelles, G., López Saura, P., & Gra Oramas, B. (2000). Tratamiento de la hepatitis crónica C con interferón alfa 2b recombinante: Ensayo clínico controlado aleatorizado. *Revista Cubana de Medicina*, 39(1), 12–20. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-7523200000100003

- Asmuth, D. M., Murphy, R. L., Rosenkranz, S. L., Lertora, J. J. L., Kottlil, S., Cramer, Y., Chan, E. S., Schooley, R. T., Rinaldo, C. R., Thielman, N., Li, X.-D., Wahl, S. M., Shore, J., Janik, J., Lempicki, R. A., Simpson, Y., & Pollard, R. B. (2010). Safety, Tolerability, and Mechanisms of Antiretroviral Activity of Pegylated Interferon Alfa-2a in HIV-1- Monoinfected Participants: A Phase II Clinical Trial. *The Journal of Infectious Diseases*, *201*(11), 1686–1696. <https://doi.org/10.1086/652420>
- Asociación Española de Pediatría. (2018, February 20). *Interferón alfa-2b | Asociación Española de Pediatría*. <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/interferon-alfa-2b>
- Avedaño-Alvarado, G. (2008). Virus B e interferón. *Acta Médica Costarricense*, *50*. https://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-60022008000500015
- Avendaño Solà, C. (2006). Interferons: Types and actions. *Gastroenterología y Hepatología*, *29*(SUPPL. 2), 125–128. <https://doi.org/10.1157/13097645>
- Babaeipour, V., Shojaosadati, S. A., & Maghsoudi, N. (2013). Maximizing Production of Human Interferon- γ in HCDC of Recombinant E. coli. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research : IJPR*, *12*(3), 563. [/pmc/articles/PMC3813276/](http://pmc/articles/PMC3813276/)
- Badgwell, B., Lesinski, G. B., Magro, C., Abood, G., Skaf, A., & Carson, W. (2004). The antitumor effects of interferon-alpha are maintained in mice challenged with a STAT1-deficient murine melanoma cell line. *Journal of Surgical Research*, *116*(1), 129–136. <https://doi.org/10.1016/j.jss.2003.09.005>
- Baeshen, M., Al-Hejin, A., RS, B., MM, A., HA, R., KS, S., NA, B., & EM, R. (2015). Production of Biopharmaceuticals in E. coli: Current Scenario and Future Perspectives. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, *25*(7), 953–962. <https://doi.org/10.4014/JMB.1412.12079>
- Baghban, R., Farajnia, S., Rajabibazl, M., Ghasemi, Y., Mafi, A., Hoseinpoor, R., Rahbarnia, L., & Aria, M. (2019). Yeast Expression Systems: Overview and Recent Advances. *Molecular Biotechnology* *2019* *61*:5, *61*(5), 365–384. <https://doi.org/10.1007/S12033-019-00164-8>
- Baladrón, I., Barbón, Z., Solares, A., Valenzuela, C., García, E., & Martínez, A. (2012). Aplicación Intralesional del Interferón alfa 2bHr cubano (Heberon Alfa R[®]) en el tratamiento de las verrugas genitales. *Revista Cubana de Obstetricia y Ginecología*, *38*(2). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-600X2012000200010
- Balchin, D., Hayer-Hartl, M., & Hartl, F. U. (2016). In vivo aspects of protein folding and quality control. In *Science* (Vol. 353, Issue 6294). American Association for the Advancement of Science. <https://doi.org/10.1126/science.aac4354>
- Baldo, B. A. (2014). Side Effects of Cytokines Approved for Therapy. *Drug Safety* *2014* *37*:11, *37*(11), 921–943. <https://doi.org/10.1007/S40264-014-0226-Z>
- Baldo, P., Rupolo, M., Compagnoni, A., Lazzarini, R., Bearz, A., Cannizzaro, R., Spazzapan, S., Truccolo, I., & Moja, L. (2010). Interferon-alpha for maintenance of follicular lymphoma. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *1*. <https://doi.org/10.1002/14651858.cd004629.pub2>
- Baralle, F., & Tisminetzky, S. (2003). *EP1310559A1 - Process for the production of alpha interferon of therapeutic degree - Google Patents*. 2003. <https://patents.google.com/patent/EP1310559A1/en>
- Baron, S., Tying, S. K., Fleischmann, W. R., Coppenhaver, D. H., Niesel, D. W., Klimpel, G. R., Stanton, G. J., & Hughes, T. K. (1991). The Interferons: Mechanisms of Action and Clinical Applications. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*, *266*(10), 1375–1383. <https://doi.org/10.1001/jama.266.10.1375>
- Bassily, S., Haide, G., & Mervat, A. (1998). *US6156542A - Method for production of native human leukocyte (alpha) interferon - Google Patents*. ACAP1 Alphachem Advanced Pharmaceutical Industries SAE. <https://patents.google.com/patent/US6156542>
- Battcock, S. M., Collier, T. W., Zu, D., & Hirasawa, K. (2020). Negative Regulation of the Alpha Interferon-Induced Antiviral Response by the Ras/Raf/MEK Pathway. *Journal of Virology*, *80*(9), 4422–4430.

<https://doi.org/10.1128/JVI.80.9.4422-4430.2006>

- Baumgärtner, F., Seitz, L., Sprenger, G. A., & Albermann, C. (2013). Construction of Escherichia coli strains with chromosomally integrated expression cassettes for the synthesis of 2'-fucosyllactose. *Microbial Cell Factories*, 12(1), 40. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-12-40>
- Bekisz, J., Baron, S., Balinsky, C., Morrow, A., & Zoon, K. (2010). Antiproliferative Properties of Type I and Type II Interferon. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 3(4), 994–1015. <https://doi.org/10.3390/PH3040994>
- Bekisz, Joseph, Schmeisser, H., Pontzer, C., & Zoon, K. C. (2003). Interferons: α , β , ω , and τ . In *Encyclopedia of Hormones* (pp. 397–405). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b0-12-341103-3/00150-9>
- Berlin, J. A., Glasser, S. C., & Ellenberg, S. S. (2008). Adverse Event Detection in Drug Development: Recommendations and Obligations Beyond Phase 3. *American Journal of Public Health*, 98(8), 1366. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2007.124537>
- Billiau, A., Edy, V. G., Heremans, H., Van Damme, J., Desmyter, J., Georgiades, J. A., & Dz SOMER, A. P. (1977). Human Interferon: Mass Production in a Newly Established Cell Line, MG-63. *ANTIMICROBIAL AGzNTS AND CHzmoTHzRAPHY*, 12(1), 11–15. <https://journals.asm.org/journal/aac>
- Blatt, L. M., Davis, J. M., Klein, S. B., & Taylor, M. W. (1996). The biologic activity and molecular characterization of a novel synthetic interferon-alpha species, consensus interferon. In *Journal of Interferon and Cytokine Research* (Vol. 16, Issue 7, pp. 489–499). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/jir.1996.16.489>
- Boasso, A. (2013). Type I Interferon at the Interface of Antiviral Immunity and Immune Regulation: The Curious Case of HIV-1. *Scientifica*, 2013, 1–20. <https://doi.org/10.1155/2013/580968>
- Bodo, G., Maurer-Fogy, I., Falkner, E., & Lindner, S. (1991). US5196323A - Process for preparing and purifying alpha-interferon - Google Patents. <https://patents.google.com/patent/US5196323A/en>
- Boehm, U., Klamp, T., Groot, M., & Howard, J. C. (1997). CELLULAR RESPONSES TO INTERFERON- γ . *Annual Review of Immunology*, 15(1), 749–795. <https://doi.org/10.1146/annurev.immunol.15.1.749>
- Bohn, J.-P., Gastl, G., & Steurer, M. (2016). Long-term treatment of hairy cell leukemia with interferon- α : still a viable therapeutic option. *Memo - Magazine of European Medical Oncology 2016 9:2*, 9(2), 63–65. <https://doi.org/10.1007/S12254-016-0269-1>
- Borden, E. C., Sen, G. C., Uze, G., Silverman, R. H., Ransohoff, R. M., Foster, G. R., & Stark, G. R. (2007). Interferons at age 50: Past, current and future impact on biomedicine. In *Nature Reviews Drug Discovery* (Vol. 6, Issue 12, pp. 975–990). Nat Rev Drug Discov. <https://doi.org/10.1038/nrd2422>
- Breitling, R., Gerlach, D., Hartmann, M., & Behnke, D. (1989). Secretory expression in Escherichia coli and Bacillus subtilis of human interferon α genes directed by staphylokinase signals. *MGG Molecular & General Genetics*, 217(2–3), 384–391. <https://doi.org/10.1007/BF02464908>
- Brooks, S. A. (2004). Appropriate glycosylation of recombinant proteins for human use. *Molecular Biotechnology 2004 28:3*, 28(3), 241–255. <https://doi.org/10.1385/MB:28:3:241>
- Burnett, M. J. B., & Burnett, A. C. (2020). Therapeutic recombinant protein production in plants: Challenges and opportunities. *Plants, People, Planet*, 2(2), 121–132. <https://doi.org/10.1002/PPP3.10073>
- Busotz, A. (2020, September 20). *CONOCIENDO EL LENGUAJE R – IDE RStudio | Iplaclass.com*. <https://iplaclass.com/2020/09/20/conociendo-el-lenguaje-r-ide-rstudio/>
- Buti, M. (2008). ¿Es el tipo de interferón pegilado importante en la respuesta al tratamiento de la hepatitis crónica C? In *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica* (Vol. 26, Issue 3, pp. 125–126). Ediciones Doyma, S.L. <https://doi.org/10.1157/13116747>
- Cantell, K., Hirvonen, S., & Koistinen, V. (1981). Partial Purification of Human Leukocyte Interferon on a Large Scale. *Methods in Enzymology*, 78(C), 499–505. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(81\)78161-8](https://doi.org/10.1016/0076-6879(81)78161-8)

- Casablancas, A., Lecina, M., Cairó, J., & Román, R. (2018). *UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA ESCOLA D'ENGINYERIA DEPARTAMENT D'ENGINYERIA QUÍMICA, BIOLÒGICA I AMBIENTAL GRUP D'ENGINYERIA CEL·LULAR I BIOPROCESSOS PROGRAMA DE DOCTORAT EN BIOTECNOLOGIA*.
- Castellanos Esparza, C., & Jiménez Zamudio, L. A. (2010). "Inducción de mieloma murino."
- Castro, C. (2018). *Peginterferon alfa-2a: Carlos Castro | Ciencias de la vida | Ciencia y matemática*.
<https://es.scribd.com/document/391308079/peginterferon>
- Castro, I., Echarri, E., Ferriols, F., García, A., Martínez, J., Olivieras, M., & De Puig, E. (2003). *MEDICAMENTOS CITOSTÁTICOS Sociedad Española de Farmacéuticos de Hospitales*.
<https://www.sefh.es/libro/Wyeth/pdf/libro.pdf>
- Castro, L. S., Lobo, G. S., Pereira, P., Freire, M. G., Neves, M. C., & Pedro, A. Q. (2021). Interferon-Based Biopharmaceuticals: Overview on the Production, Purification, and Formulation. *Vaccines 2021, Vol. 9, Page 328, 9(4)*, 328. <https://doi.org/10.3390/VACCINES9040328>
- Casulo, C., Nastoupil, L., Fowler, N. H., Friedberg, J. W., & Flowers, C. R. (2017, September 1). Unmet needs in the first-line treatment of follicular lymphoma. *Annals of Oncology, 28(9)*, 2094–2106.
<https://doi.org/10.1093/annonc/mdx189>
- Ceaglio, N., Oggero, M., & Kratje, R. (2008). *DESARROLLO DE UNA TECNOLOGÍA DE PRODUCCIÓN DE INTERFERÓN ALFA HUMANO RECOMBINANTE GLICOSILADO EN CÉLULAS EUKARIÓTICAS*.
<https://bibliotecavirtual.unl.edu.ar:8443/bitstream/handle/11185/57/Tesis.pdf?sequence=14&isAllowed=y>
- Ceaglio, Natalia, Gugliotta, A., Tardivo, M. B., Cravero, D., Etcheverrigaray, M., Kratje, R., & Oggero, M. (2016). Improvement of in vitro stability and pharmacokinetics of hIFN- α by fusing the carboxyl-terminal peptide of hCG β -subunit. *Journal of Biotechnology, 221*, 13–24. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.01.018>
- Center for Drug Evaluation and Research. (2014). *PRODUCT INFORMATION INTRON® A*.
https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2014/103132s5190lbl.pdf
- Cesaro, T., Hayashi, Y., Borghese, F., Vertommen, D., Wavreil, F., & Michiels, T. (2021). PKR activity modulation by phosphomimetic mutations of serine residues located three aminoacids upstream of double-stranded RNA binding motifs. *Scientific Reports 2021 11:1, 11(1)*, 1–16. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88610-z>
- Cha, L., Berry, C. M., Nolan, D., Castley, A., Fernandez, S., & French, M. A. (2014). Interferon-alpha, immune activation and immune dysfunction in treated HIV infection. *Clinical & Translational Immunology, 3(2)*, e10. <https://doi.org/10.1038/cti.2014.1>
- Chai, D., Wang, G., Fang, L., Li, H., Liu, S., Zhu, H., & Zheng, J. (2020). The optimization system for preparation of TG1 competent cells and electrotransformation. *MicrobiologyOpen, 9(7)*.
<https://doi.org/10.1002/MBO3.1043>
- Chaiken, I. (2018). *Analytical Affinity Chromatography*. Taylor and Francis Group.
https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=ZGhQDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&dq=affinity+chromatography&ots=VC5mcbLBIg&sig=GmYlg1HXaMu64z_cIDg5dhtV4PY&redir_esc=y#v=onepage&q=affinity+chromatography&f=false
- Chalasani, N., Bonkovsky, H., Fontana, R., Lee, W., Stolz, A., Talwalkar, J., Reddy, K., Watkins, P., Navarro, V., Barnhart, H., Gu, J., Serrano, J., & Network, for the U. S. D. I. L. I. (2015). Features and Outcomes of 899 Patients with Drug-induced Liver Injury: The DILIN Prospective Study. *Gastroenterology, 148(7)*, 1340.
<https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2015.03.006>
- Chang, Y.-H., Lau, K. S., Kuo, R.-L., & Horng, J.-T. (2017). dsRNA Binding Domain of PKR Is Proteolytically Released by Enterovirus A71 to Facilitate Viral Replication. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 0(JUN)*, 284. <https://doi.org/10.3389/FCIMB.2017.00284>

- Chapman, F., Dowdt, J., Johnstons, V., Manna, N. S., Sarantis, I. N., Sheron, N., Scott, G., Phua, S., & Tatum, P. (1991). The Use of Interferon- α in Virus Infections. In *Drugs* (Vol. 42, Issue 5).
- Chemocare. (2012, November 5). *Interferon alfa - Drug Information - Chemocare*. <http://chemocare.com/chemotherapy/drug-info/interferon-alfa.aspx>
- Chemocare. (2013, February). *Roferon (interferon alfa-2A) - Chemocare*. <http://chemocare.com/es/chemotherapy/drug-info/roferoninterferonalfa-2A.aspx>
- Chen, J., Baig, E., & Fish, E. N. (2004). Diversity and relatedness among the type I interferons. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 24(12), 687–698. <https://doi.org/10.1089/jir.2004.24.687>
- Chen, R. (2012). Bacterial expression systems for recombinant protein production: E. coli and beyond. *Biotechnology Advances*, 30(5), 1102–1107. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2011.09.013>
- Chen, S. H., Plank, J. L., Willcox, S., Griffith, J. D., & Hsieh, T. (2013). Improved methods for creating migratable Holliday junction substrates. *Nucleic Acids Research*, 41(5), e60–e60. <https://doi.org/10.1093/NAR/GKS1343>
- Chevaliez, S., Pawlotsky, J.-M. M., & Chevaliez, S. (2009). Interferons and Their Use in Persistent Viral Infections. In *Handbook of Experimental Pharmacology* (Vol. 189). https://doi.org/10.1007/978-3-540-79086-0_8
- CHMP, & EMA. (2010). *PEGINTRON, INN-peginterferon alfa-2b*. <https://www.drugs.com/sfx/pegintron-side-effects.html>
- Clemens, M. J. (2003). Interferons and apoptosis. In *Journal of Interferon and Cytokine Research* (Vol. 23, Issue 6, pp. 277–292). Mary Ann Liebert, Inc. . <https://doi.org/10.1089/107999003766628124>
- Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos. (2018). *INTERFERONES*. <https://botplusweb.portalfarma.com/documentos/2018/12/4/129863.pdf>
- Correa, A. (2017). “Diseño e implementación de nuevas herramientas para la solubilización, evolución y cristalogénesis de proteínas” “Sin experimentación no hay verdad” *Aristóteles 384-322 a.C* [Universidad de la República]. <https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/6902/1/uy24-16945.pdf>
- Cos, O., Ramón, R., Montesinos, J. L., & Valero, F. (2006). Operational strategies, monitoring and control of heterologous protein production in the methylotrophic yeast *Pichia pastoris* under different promoters: A review. In *Microbial Cell Factories* (Vol. 5, p. 17). BioMed Central. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-5-17>
- Costa, M. B., Picon, P. D., Sander, G. B., Cuni, H. N., Silva, C. V., Meireles, R. P., Góes, A. C. M. A., Batoreu, N. M., Maia, M. de L. de S., Albuquerque, E. M., Matos, D. C. de S., & Saura, P. L. (2018). Pharmacokinetics comparison of two pegylated interferon alfa formulations in healthy volunteers. *BMC Pharmacology and Toxicology* 2018 19:1, 19(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/S40360-017-0192-Z>
- Couture, A., Garnier, A., Docagne, F., Boyer, O., Vivien, D., Le-Mauff, B., Latouche, J.-B., & Toutirais, O. (2019). HLA-Class II Artificial Antigen Presenting Cells in CD4+ T Cell-Based Immunotherapy. *Frontiers in Immunology*, 0(MAY), 1081. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2019.01081>
- Cox, M. C. C., Rozera, C., Mattei, M., Muraro, E., Aricò, E., Di Napoli, A., Pavan, A., Di Landro, F., Santodonato, L., Martorelli, D., D’Agostino, G., Lapenta, C., Hohaus, S., Cuccaro, A., Cantonetti, M., Zoli, V., Berdini, C., Sonia, B., Pupo, L., ... Belardelli, F. (2018). High Response Rate in Relapsed/Refractory Follicular Lymphoma Following Personalised Immunotherapy with Intranodal IFN- α -Dendritic-Cell and Rituximab. *Blood*, 132(Supplement 1), 5334–5334. <https://doi.org/10.1182/blood-2018-99-114533>
- Cregg, J. M., Cereghino, J. L., Shi, J., & Higgins, D. R. (2000). Recombinant protein expression in *Pichia pastoris*. In *Applied Biochemistry and Biotechnology - Part B Molecular Biotechnology* (Vol. 16, Issue 1, pp. 23–52). Springer. <https://doi.org/10.1385/MB:16:1:23>

- Cruzat, V., Rogero, M. M., Keane, K. N., Curi, R., & Newsholme, P. (2018). Glutamine: Metabolism and immune function, supplementation and clinical translation. In *Nutrients* (Vol. 10, Issue 11). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/nu10111564>
- Czerwionka-Szaflarska, M., Chrobot, A., & Szaflarska-Szczepanik, A. (2000). Studies of the effectiveness of interferon alpha treatment for chronic hepatitis C in children. *Medical Science Monitor*, 6(5), 964–970.
- Dafny, N., & Lincoln, J. (2016). The Role of Interferons on the Central Nervous System in Health and Disease. *Reference Module in Biomedical Sciences*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.99446-7>
- Davies, K. A., Cooper, E., Voon, V., Tibble, J., Cercignani, M., & Harrison, N. A. (2020). Interferon and anti-TNF therapies differentially modulate amygdala reactivity which predicts associated bidirectional changes in depressive symptoms. *Molecular Psychiatry* 2020, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41380-020-0790-9>
- Davoodi, L., Masoum, B., Moosazadeh, M., Jafarpour, H., Haghshenas, M. R., & Mousavi, T. (2018). Psychiatric side effects of pegylated interferon- α and ribavirin therapy in Iranian patients with chronic hepatitis C: A meta-analysis. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16(2), 971. <https://doi.org/10.3892/ETM.2018.6255>
- De Maeyer, E., Skup, D., Prasad, K. S. N., De Maeyer-Guignard, J., Williamst, B., Meacock, P., Sharpet, G., Pioli, D., Hennam, J., Schuch, W., & Atherton, K. (1982). Expression of a chemically synthesized human α 1 interferon gene [expression in *Escherichia coli* and *Methylophilium methylotrophus*/antiviral activity/cell specificity/stimulation of (2'-5')oligoadenylate synthetase]. In *Proc. Natl Acad. Sci. USA* (Vol. 79).
- Dejucq, N., Dugast, M., Ruffault, U., Van Der Meide, P., & Jégoy, B. (1995). Interferon- α and - γ expression in the rat testis. *Endocrinology*, 136(11), 4925–4931. <https://doi.org/10.1210/en.136.11.4925>
- Del Carmen Jiménez Martínez, M., Trejo Márquez, H., Herrera Sánchez, A., Luis, J., Ibarra, R., Chávez, R., Lascurain, R., & Zenteno, E. (2002). *Alteraciones de la glicosilación en enfermedades humanas: Vol. Aceptado*.
- Del Rosario, M., & García, J. (2001). Sistema interferón y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 1. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002001000100016
- Dellas, N., Liu, J., Botham, R. C., & Huisman, G. W. (2021). Adapting protein sequences for optimized therapeutic efficacy. *Current Opinion in Chemical Biology*, 64, 38–47. <https://doi.org/10.1016/J.CBPA.2021.03.005>
- Dias, P. V. S., Arthuso, F. S., Oliveira, J. E., Suzuki, M. F., Sousa, J. M., Ribela, M. T. C. P., Bartolini, P., & Soares, C. R. J. (2018). Determination of recombinant Interferon- α 2 in *E. coli* periplasmic extracts by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography B*, 1072, 193–198. <https://doi.org/10.1016/J.JCHROMB.2017.11.023>
- Dimova, R. B., & Talal, A. H. (2010). Pharmacokinetic and pharmacodynamic modeling of pegylated-interferon α . *Journal of Hepatology*, 53(3), 418–420. <https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2010.04.014>
- Duguet, F., Ortega-Ferreira, C., Fould, B., Darville, H., Berger, S., Chomel, A., Leclerc, G., Kisand, K., Haljasmägi, L., Hayday, A. C., Desvaux, E., Nony, E., Moingeon, P., & De Ceuninck, F. (2021). S95021, a novel selective and pan-neutralizing anti interferon α (IFN- α) monoclonal antibody as a candidate treatment for selected autoimmune rheumatic diseases. *Journal of Translational Autoimmunity*, 4, 100093. <https://doi.org/10.1016/J.JTAUTO.2021.100093>
- Dullah, E. C., & Ongkudon, C. M. (2017). Current trends in endotoxin detection and analysis of endotoxin–protein interactions. *Critical Reviews in Biotechnology*, 37(2), 251–261. <https://doi.org/10.3109/07388551.2016.1141393>
- Dumoutier, L., Lejeune, D., Hor, S., Fickenscher, H., & Renauld, J.-C. (2003). Cloning of a new type II cytokine receptor activating signal transducer and activator of transcription (STAT)1, STAT2 and STAT3. In *Biochem. J* (Vol. 370).

- Durai, V., & Murphy, K. (2016). Functions of Murine Dendritic Cells. *Immunity*, *45*(4), 719–736. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2016.10.010>
- Durocher Yves, Laignon Martín, & Cass Brian. (2009). *WO2009073975A1 - Producción de proteínas de interferón recombinante - Patentes de Google*. <https://patents.google.com/patent/WO2009073975A1/en>
- Dusheiko, G. (2003). Side effects of α interferon in chronic hepatitis C. *Hepatology*, *26*(S3), 112S-121S. <https://doi.org/10.1002/HEP.510260720>
- Edge, M. D., Camble, R., & Edge, I. D. (2013). Biotechnology and Genetic Engineering Reviews Interferon Synthesis by Micro-organisms Micro-organisms. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, *2*(1), 215–252. <https://doi.org/10.1080/02648725.1984.10647800>
- El-Baky, N. A., Elkhawaga, M. A., Abdelkhalek, E. S., Sharaf, M. M., Redwan, E. M., & Kholef, H. R. (2021). De novo expression and antibacterial potential of four lactoferricin peptides in cell-free protein synthesis system. *Biotechnology Reports*, *29*, e00583. <https://doi.org/10.1016/J.BTRE.2020.E00583>
- El-Baky, N. A., Linjawi, M. H., & Redwan, E. M. (2015). Auto-induction expression of human consensus interferon-alpha in Escherichia coli. *BMC Biotechnology 2015 15:1*, *15*(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12896-015-0128-X>
- El-Baky, N. A., Omar, S. H., & Redwan, E. M. (2011). The anti-cancer activity of human consensus interferon-alpha synthesized in cell-free system. *Protein Expression and Purification*, *80*(1), 61–67. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2011.07.003>
- El-Baky, N. A., & Redwan, E. M. (2015). Therapeutic alpha-interferons protein: Structure, production, and biosimilar. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, *45*(2), 109–127. <https://doi.org/10.1080/10826068.2014.907175>
- El-Baky, N. A., Uversky, V. N., & Redwan, E. M. (2015). Human consensus interferons: Bridging the natural and artificial cytokines with intrinsic disorder. In *Cytokine and Growth Factor Reviews* (Vol. 26, Issue 6, pp. 637–645). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2015.07.012>
- Embarc-Buh, A., Francisco-Velilla, R., & Martinez-Salas, E. (2021). Rna-binding proteins at the host-pathogen interface targeting viral regulatory elements. *Viruses*, *13*(6). <https://doi.org/10.3390/v13060952>
- Encalada-García, C. (2017). Células dendríticas e interferones en el lupus eritematoso sistémico. In *Revista Colombiana de Reumatología* (Vol. 24, Issue 3, pp. 177–184). Asociacion Colombiana de Reumatología. <https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2017.04.002>
- Eshbach, M. L., & Weisz, O. A. (2017). Receptor-Mediated Endocytosis in the Proximal Tubule. In *Annual Review of Physiology* (Vol. 79, pp. 425–448). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-022516-034234>
- Eto, M., Kamba, T., Miyake, H., Fujisawa, M., Kamai, T., Uemura, H., Tsukamoto, T., Azuma, H., Matsubara, A., Nishimura, K., Nakamura, T., Ogawa, O., & Naito, S. (2013). STAT3 polymorphism can predict the response to interferon- α Therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma. *European Urology*, *63*(4), 745–752. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2012.09.052>
- European Medicines Agency. (2005). *Pegasys, INN-Peginterferon alfa-2a*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-discussion/pegasys-epar-scientific-discussion_en.pdf
- European Medicines Agency. (2006). *Ficha técnica: IntronA, INN-Interferon alfa-2b*. https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/introna-epar-product-information_es.pdf
- European Medicines Agency. (2010). *INTRON A, interferon alfa-2b*. <https://www.ema.europa.eu/en/documents/product-information/introna-epar-product->

information_en.pdf

- Everest-Dass, A. V, Moh, E. S. X., Ashwood, C., Shathili, A. M. M., & Packer, N. H. (2018). Human disease glycomics: technology advances enabling protein glycosylation analysis – part 2. *https://doi.org/10.1080/14789450.2018.1448710*, 15(4), 341–352.
<https://doi.org/10.1080/14789450.2018.1448710>
- Fan, H., Lin, L., Jia, S., Xie, M., Luo, C., Tan, X., Ying, R., Guan, Y., & Li, F. (2019). Interferon alpha treatment leads to a high rate of hepatitis B surface antigen seroconversion in Chinese children with chronic hepatitis B. *Journal of Viral Hepatitis*, 26(S1), 77–84. <https://doi.org/10.1111/jvh.13165>
- Farmacéutica Mexicana, A., México Drago Serrano, A., Elisa, M., Espuñes, S., & del, T. R. (2006). Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(1), 38–44.
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57937106>
- Fathi-Roudsari, M., Akhavian-Tehrani, A., & Maghsoudi, N. (2016). Comparison of three Escherichia coli strains in recombinant production of reteplase. *Avicenna Journal of Medical Biotechnology*, 8(1), 16–22.
</pmc/articles/PMC4717461/>
- Federación Bioquímica de la Provincia de Buenos Aires. (2001). ¿Qué son los interferones. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*. <http://www.faba.org.ar/fabainforma/359/acta01.html>
- Feng, J., Wickenhagen, A., Turnbull, M., Rezelj, V., Kreher, F., Tilston-Lunel, N., Slack, G., B, B., E, K., AE, S., SJ, R., CM, R., PD, B., RM, E., X, S., & SJ, W. (2018). Interferon-Stimulated Gene (ISG)-Expression Screening Reveals the Specific Antibunaviral Activity of ISG20. *Journal of Virology*, 92(13).
<https://doi.org/10.1128/JVI.02140-17>
- Fensterl, V., Chattopadhyay, S., & Sen, G. C. (2015). No Love Lost between Viruses and Interferons. In *Annual Review of Virology* (Vol. 2, pp. 549–572). Annual Reviews Inc. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-100114-055249>
- Fernández-Sánchez, H., King, K., & Enríquez-Hernández, C. B. (2020). Revisión Sistemática Exploratoria como metodología para la síntesis del conocimiento científico. *Enfermería Universitaria*, 17(1), 87–94.
<https://doi.org/10.22201/eneo.23958421e.2020.1.697>
- Ferrantini, M., Capone, I., & Belardelli, F. (2007). Interferon- α and cancer: Mechanisms of action and new perspectives of clinical use. In *Biochimie* (Vol. 89, Issues 6–7, pp. 884–893). Biochimie.
<https://doi.org/10.1016/j.biochi.2007.04.006>
- Ferreira, V., Borba, H., Bonetti, A., Leonart, L., & Pontarolo, R. (2019). Cytokines and Interferons: Types and Functions. In *Autoantibodies and Cytokines*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.74550>
- Ferrer-Miralles, N., Saccardo, P., Corchero, J. L., Xu, Z., & Garcfa-Fruitós, E. (2015). General introduction: Recombinant protein production and purification of insoluble proteins. *Methods in Molecular Biology*, 1258, 1–24. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2205-5_1
- Finter, N. (1986). An overview of Wellferon (interferon alfa-n1): the product. *The Medical Clinics of North America, Suppl*, 13–18. [https://doi.org/10.1016/S0025-7125\(16\)36782-7](https://doi.org/10.1016/S0025-7125(16)36782-7)
- Fischer, A. J., Maiyuran, S., & Yaver, D. S. (2021). Industrial Relevance of Trichoderma reesei as an Enzyme Producer. In *Methods in Molecular Biology* (Vol. 2234, pp. 23–43). Humana Press Inc.
https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1048-0_2
- Fischer, S., Handrick, R., & Otte, K. (2015). The art of CHO cell engineering: A comprehensive retrospect and future perspectives. In *Biotechnology Advances* (Vol. 33, Issue 8, pp. 1878–1896). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.10.015>
- Fitz, E., Wanka, F., & Seiboth, B. (2018). The Promoter Toolbox for Recombinant Gene Expression in Trichoderma reesei. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6(OCT), 135.
<https://doi.org/10.3389/FBIOE.2018.00135>

- Fonseca, L. M., Parreiras, L. S., & Murakami, M. T. (2020). Rational engineering of the *Trichoderma reesei* RUT-C30 strain into an industrially relevant platform for cellulase production. *Biotechnology for Biofuels*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/S13068-020-01732-W>
- Food and Drug Administration. (2006). *Interferon*. Drugs@FDA: FDA-Approved Drugs. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/daf/index.cfm?event=BasicSearch.process>
- Food and Drugs Administration. (2011a). *HIGHLIGHTS OF PRESCRIBING INFORMATION PEGASYS*. www.fda.gov/medwatch.
- Food and Drugs Administration. (2011b). *Label for Pegintron Label for Sylatron*. www.fda.gov/medwatch.
- Foster, G. R. (2012). Pegylated Interferons for the Treatment of Chronic Hepatitis C. *Drugs* 2010 70:2, 70(2), 147–165. <https://doi.org/10.2165/11531990-000000000-00000>
- Fresno, M. (2018). *Aspectos funcionales y aplicaciones de los interferones*. <http://esteven.org/wp-content/uploads/2018/01/136633.pdf>
- Freudl, R. (2018). Signal peptides for recombinant protein secretion in bacterial expression systems. *Microbial Cell Factories* 2018 17:1, 17(1), 1–10. <https://doi.org/10.1186/S12934-018-0901-3>
- Friedman, R. M. (2008). Clinical uses of interferons. In *British Journal of Clinical Pharmacology* (Vol. 65, Issue 2, pp. 158–162). Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2007.03055.x>
- Fulcher, E. M., & Fulcher, R. M. (2012). *Pharmacology: Principles and Applications* (3rd ed.). Elsevier. https://books.google.com.ec/books?id=qs_sAwAAQBAJ&pg=PR11&lpg=PR11&dq=Today,+pharmaceutic+als+are+considered+the+most+regulated+industries+in+the+world+as+the+regulatory+body+must+ens+ure+compliance+with+various+legal+and+regulatory+aspects+for+the+approval+of+a+drug&source=bl&ots=76EA_JMdNx&sig=ACfU3U3QD32mLpLWvx2eJezbOGaQFtgr0w&hl=es&sa=X&ved=2ahUKewivpKDs wYbyAhUfIWofHfgsB2UQ6AEwEHoECCgQAw#v=onepage&q=Today%2C+pharmaceuticals+are+considered+the+most+regulated+industries+in+the+world+as+the+regulatory+body+must+ensure+compliance+with+various+legal+and+regulatory+aspects+for+the+approval+of+a+drug&f=false
- García-Fruitós, E. (2015). *Insoluble Proteins - Methods and Protocols*. Springer. <https://www.springer.com/gp/book/9781493922048>
- García-García, I., Hernández-González, I., Díaz-Machado, A., González-Delgado, C. A., Pérez-Rodríguez, S., García-Vega, Y., Campos-Mojena, R., Tuero-Iglesias, Á. D., Valenzuela-Silva, C. M., Cruz-Ramírez, A., Martín-Trujillo, A., Santana-Milián, H., López-Saura, P. A., & Bello-Rivero, I. (2016). Pharmacokinetic and pharmacodynamic characterization of a novel formulation containing co-formulated interferons alpha-2b and gamma in healthy male volunteers. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40360-016-0103-8>
- García-Sesma, Á. (2017). *Quimerismo leucocitario en el trasplante hepático. Hacia la utopía de la inmunotolerancia y la no inmunosupresión*. <https://eprints.ucm.es/id/eprint/41213/1/T38394.pdf>
- García, Y., Chasco, C., Pérez, N., Gómez, M., & Mata, J. (2012). *Cómo buscar información científica*. https://www.uv.mx/personal/jomartinez/files/2011/08/como-buscar-en-internet_2.pdf
- Gardner, A., & Ruffell, B. (2016). Dendritic Cells and Cancer Immunity. *Trends in Immunology*, 37(12), 855–865. <https://doi.org/10.1016/J.IT.2016.09.006>
- Gasmi, N., Ayed, A., Ammar, B. B. H., Zrigui, R., Nicaud, J. M., & Kallel, H. (2011). Development of a cultivation process for the enhancement of human interferon alpha 2b production in the oleaginous yeast, *Yarrowia lipolytica*. *Microbial Cell Factories*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-90>
- Gasmi, N., Ayed, A., Nicaud, J. M., & Kallel, H. (2011). Design of an efficient medium for heterologous protein production in *Yarrowia lipolytica*: Case of human interferon alpha 2b. *Microbial Cell Factories*, 10, 38. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-38>
- Gasmi, N., Fudalej, F., Kallel, H., & Nicaud, J. M. (2011). A molecular approach to optimize hIFN- α 2b expression

and secretion in *Yarrowia lipolytica*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 89(1), 109–119.
<https://doi.org/10.1007/s00253-010-2803-0>

GEMA Biotech. (2017). *Gema | Productos Detalles*. https://www.gemabiotech.com/?page_id=2733

Geng, X., Bai, Q., Zhang, Y., Li, X., & Wu, D. (2004). Refolding and purification of interferon-gamma in industry by hydrophobic interaction chromatography. *Journal of Biotechnology*, 113(1–3), 137–149.
<https://doi.org/10.1016/J.JBIOTEC.2004.06.006>

Gibbert, K., Schlaak, J. F., Yang, D., & Dittmer, U. (2013). IFN- α subtypes: Distinct biological activities in anti-viral therapy. In *British Journal of Pharmacology* (Vol. 168, Issue 5, pp. 1048–1058). Wiley-Blackwell.
<https://doi.org/10.1111/bph.12010>

Gill, D. M., Hahn, A. W., Hale, P., & Maughan, B. L. (2018). Overview of Current and Future First-Line Systemic Therapy for Metastatic Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *Current Treatment Options in Oncology*, 19(1).
<https://doi.org/10.1007/S11864-018-0517-1>

Gohier, B., Goeb, J.-L., Rannou-Dubas, K., Fouchard, I., Calès, P., & Garré, J.-B. (2009). Hepatitis C, alpha interferon, anxiety and depression disorders: A prospective study of 71 patients.
<http://Dx.Doi.Org/10.1080/15622970310029904>, 4(3), 115–118.
<https://doi.org/10.1080/15622970310029904>

Gomes, A., Byregowda, S., Veeregowda, B., & Balamurugan, V. (2016). *An Overview of Heterologous Expression Host Systems for the Production of Recombinant Proteins*. 346–356.
[https://krishi.icar.gov.in/jspui/bitstream/123456789/9425/1/AAVS_MH20160607050645_Gomes et al.pdf](https://krishi.icar.gov.in/jspui/bitstream/123456789/9425/1/AAVS_MH20160607050645_Gomes%20et%20al.pdf)

González, N., Armada, Z., & Llópiz, L. (2017, July). *Propiedades de los interferones y su acción antitumoral*. Medicentro Electrónica. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432017000300002

Govani, S. M., & Higgins, P. D. R. (2012). How to read a clinical trial paper: A lesson in basic trial statistics. In *Gastroenterology and Hepatology* (Vol. 8, Issue 4, pp. 241–248). Millenium Medical Publishing.
</pmc/articles/PMC3380258/>

Green, D. S., Nunes, A. T., Annunziata, C. M., & Zoon, K. C. (2016). Monocyte and interferon based therapy for the treatment of ovarian cancer. In *Cytokine and Growth Factor Reviews* (Vol. 29, pp. 109–115). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.cytogfr.2016.02.006>

Green, D. S., Nunes, A. T., David-Ocampo, V., Ekwede, I. B., Houston, N. D., Highfill, S. L., Khuu, H., Stroncek, D. F., Steinberg, S. M., Zoon, K. C., & Annunziata, C. M. (2018). A Phase 1 trial of autologous monocytes stimulated ex vivo with Sylatron® (Peginterferon alfa-2b) and Actimmune® (Interferon gamma-1b) for intra-peritoneal administration in recurrent ovarian cancer. *Journal of Translational Medicine* 2018 16:1, 16(1), 1–9. <https://doi.org/10.1186/S12967-018-1569-5>

Green, D. S., Young, H. A., & Valencia, J. C. (2017). Current prospects of type II interferon γ signaling & autoimmunity. In *Journal of Biological Chemistry* (Vol. 292, Issue 34, pp. 13925–13933). American Society for Biochemistry and Molecular Biology Inc. <https://doi.org/10.1074/jbc.R116.774745>

Gribben, J. G. (2018). Clinical Manifestations, Staging, and Treatment of Follicular Lymphoma. In *Hematology: Basic Principles and Practice* (7th ed., pp. 1288-1297.e3). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-35762-3.00080-9>

Gruswitz, F., Chaudhary, S., Ho, J. D., Schlessinger, A., Pezeshki, B., Ho, C.-M., Sali, A., Westhoff, C. M., & Stroud, R. M. (2010). Function of human Rh based on structure of RhCG at 2.1 Å. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 107(21), 9638.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.1003587107>

Guerrero, M. (2017, August 24). Bioprocesos para la producción de proteínas recombinantes. *Seminarios En Bioseguridad y Biotecnología de OGMs*. <https://www.conacyt.gob.mx/cibiogem/index.php/seminarios->

en-bioseguridad-y-biotecnologia-de-ogms/bioprosos-prod-proteinas-recombinantes

- Gull, I., Aslam, M. S., Tipu, I., Mushtaq, R., Ali, T. Z., & Athar, M. A. (2019). Development of latent Interferon alpha 2b as a safe therapeutic for treatment of Hepatitis C virus infection. *Scientific Reports*, *9*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47074-y>
- Guo, J., Xiao, Y., Iyer, R., Lu, X., Lake, M., Lador, U., Harlan, J., Samanta, T., Tomlinson, M., Bukofzer, G., Donawho, C., Shoemaker, A., & Huang, T.-H. (2019). Empowering therapeutic antibodies with IFN- α for cancer immunotherapy. *PLOS ONE*, *14*(8), e0219829. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0219829>
- Gupta, S. K., & Shukla, P. (2017). Sophisticated Cloning, Fermentation, and Purification Technologies for an Enhanced Therapeutic Protein Production: A Review. *Frontiers in Pharmacology*, *0*(JUL), 419. <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00419>
- Gupta, V., Bhavanasi, S., Quadir, M., Singh, K., Ghosh, G., Vasamreddy, K., Ghosh, A., Siahaan, T. J., Banerjee, S., & Banerjee, S. K. (2019). Protein PEGylation for cancer therapy: bench to bedside. *Journal of Cell Communication and Signaling*, *13*(3), 319. <https://doi.org/10.1007/S12079-018-0492-0>
- Haller, O., & Kochs, G. (2019). Mx genes: host determinants controlling influenza virus infection and trans-species transmission. *Human Genetics* *2019* *139*:6, *139*(6), 695–705. <https://doi.org/10.1007/S00439-019-02092-8>
- Hauptman, R., Falkner, E., Bodo, G., Voss, T., & Maurer-Fogy, I. (1998). *US5710027A - Process and vector for expressing alpha-interferon in E. coli - Google Patents*. 1998. <https://patents.google.com/patent/US5710027A/en>
- Havell, E. A., Berman, B., Ogburn, C. A., Berg, K., Paucker, K., & Vilcek, J. (1980). *Interferon proteins and method of producing same*.
- He, H., Zhai, C., Mei, M., Rao, Y., Liu, Y., Wang, F., Ma, L., Jiang, Z., Zhang, G., & Yi, L. (2019). Functional expression of porcine interferon- α using a combinational strategy in *Pichia pastoris* GS115. *Enzyme and Microbial Technology*, *122*, 55–63. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2018.12.005>
- He, Yongquan, Fu, W., Cao, K., He, Q., Ding, X., Chen, J., Zhu, L., Chen, T., Ding, L., Yang, Y., Zhu, C., Yuan, S., Li, Z., Zhao, C., Zhang, X., & Xu, J. (2020). IFN- κ suppresses the replication of influenza A viruses through the IFNAR-MAPK-Fos-CHD6 axis. *Science Signaling*, *13*(626), 3381. <https://doi.org/10.1126/scisignal.aaz3381>
- He, Yuan, Wang, K., & Yan, N. (2014). The recombinant expression systems for structure determination of eukaryotic membrane proteins. *Springer*. <https://doi.org/10.1007/s13238-014-0086-4>
- Hemann, E. A., Gale, M., & Savan, R. (2017). Interferon lambda genetics and biology in regulation of viral control. *Frontiers in Immunology*, *8*(DEC), 1707. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.01707>
- Hernández-López, A., Panigua-Tapia, M. U., Cortés-Rojo, C., & Rodríguez-Orozco, A. R. (2019). Leukocytoclastic vasculitis (hypersensitivity vasculitis). *Medicina Interna de Mexico*, *35*(2), 251–267. <https://doi.org/10.24245/mim.v35i2.2351>
- Hernández, D., & Comegna, M. (2017). Sarcoma de Kaposi asociado al virus de inmunodeficiencia humana tratamiento de las recaídas. *Revista Venezolana de Oncología*, *29*. <https://www.redalyc.org/jatsRepo/3756/375650363002/375650363002.pdf>
- Herrera-Sepúlveda, A. (2008). *El sistema de síntesis de proteínas sin células (CFPS) es una herramienta simple, rápida y sensible que carece de barreras unidas a la membrana, pero que contiene todos los sustratos necesarios, las biomoléculas y toda la maquinaria necesaria para la síntesis de una proteína de interés*. https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/289/1/herrera_a.pdf
- Herrington-Symes, A., Choi, J. won, & Brocchini, S. (2017). Interferon dimers: IFN-PEG-IFN. *Journal of Drug Targeting*, *25*(9–10), 881–890. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2017.1363214>
- Hoffmann- La Roche. (2014). *FOLLETO DE INFORMACIÓN AL PROFESIONAL Roferon[®]-A*. https://www.roche.cl/content/dam/rochexx/roche-cl/roche_chile/es_CL/corporate/Files/Folleto

Médico Roferon 3 MUI -CDS 7.0 (Junio 2014)- KAU.pdf

- How, J., & Hobbs, G. (2020). Use of Interferon Alfa in the Treatment of Myeloproliferative Neoplasms: Perspectives and Review of the Literature. *Cancers 2020*, Vol. 12, Page 1954, 12(7), 1954. <https://doi.org/10.3390/CANCERS12071954>
- HPRA, & Roche. (2015). *Roferon®-A*. www.mhra.gov.uk/yellowcard
- Hu, Y., Ye, Y., Ye, L., Wang, X., Yu, H., & Janczewska, E. (2019). Efficacy and safety of interferon alpha therapy in children with chronic hepatitis B: A long-term follow-up cohort study from China. *Medicine (United States)*, 98(32). <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000016683>
- Huang, J., Zhang, X., Tong, J., Du, J., Duan, R., Yang, L., Moore, J. H., Tao, C., & Chen, Y. (2019). Comparing drug safety of hepatitis C therapies using post-market data. *BMC Medical Informatics and Decision Making*, 19(Suppl 4). <https://doi.org/10.1186/S12911-019-0860-6>
- Huang, T. Y., Chi, L. M., & Chien, K. Y. (2018). Size-exclusion chromatography using reverse-phase columns for protein separation. *Journal of Chromatography A*, 1571, 201–212. <https://doi.org/10.1016/J.CHROMA.2018.08.020>
- Instituto Latinoamericano de Comunicación Educativa. (2006). VI. INTERFERÓN E INMUNIDAD A LAS INFECCIONES VIRALES. http://bibliotecadigital.ilce.edu.mx/sites/ciencia/volumen2/ciencia3/071/htm/sec_10.htm
- Ishii, K. J., & Tang, C. K. (2014). Biological DNA Sensor: The Impact of Nucleic Acids on Diseases and Vaccinology. *Biological DNA Sensor: The Impact of Nucleic Acids on Diseases and Vaccinology*, 1–352. <https://doi.org/10.1016/C2012-0-01094-0>
- Ivashkiv, L. B., & Donlin, L. T. (2014). Regulation of type I interferon responses. In *Nature Reviews Immunology* (Vol. 14, Issue 1, pp. 36–49). NIH Public Access. <https://doi.org/10.1038/nri3581>
- Jaspe, R., Ortega, J., Zambrano, J., & Pujol, F. (2016). Presente y futuro de la terapia contra la hepatitis C. *Investigación Clínica*, 57(1). http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332016000100010
- Johnston, M. D. (1981). The Characteristics Required for a Sendai Virus Preparation to Induce High Levels of Interferon in Human Lymphoblastoid Cells. *Journal of General Virology*, 56(1), 175–184. <https://doi.org/10.1099/0022-1317-56-1-175>
- Johnston, M. J. W., Frahm, G., Li, X., Durocher, Y., & Hefford, M. A. (2011). O-linked glycosylation leads to decreased thermal stability of interferon alpha 2b as measured by two orthogonal techniques. *Pharmaceutical Research*, 28(7), 1661–1667. <https://doi.org/10.1007/s11095-011-0402-0>
- Joshi, A., Sahu, A., Noronha, V., Patil, V., & Prabhash, K. (2018). Metastatic Renal Cell Cancer-Systemic Therapy. *Indian Journal of Surgical Oncology*, 9(1), 97–104. <https://doi.org/10.1007/s13193-018-0721-2>
- Biopharmaceuticals from microorganisms: from production to purification, 47 *Brazilian Journal of Microbiology* 51 (2016). <http://www.scielo.br/j/bjm/a/q5VcnRQ9b888WW6XL7X7tTc/abstract/?lang=en>
- Kamionka, M. (2011). Engineering of Therapeutic Proteins Production in Escherichia coli. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 12(2), 268–274. <https://doi.org/10.2174/138920111794295693>
- Karbalaei, M., Rezaee, S. A., & Farsiani, H. (2020). Pichia pastoris: A highly successful expression system for optimal synthesis of heterologous proteins. *Journal of Cellular Physiology*, 235(9), 5867–5881. <https://doi.org/10.1002/JCP.29583>
- Kartal, E. D., Alpat, S. N., Ozgunes, I., & Usluer, G. (2007). Adverse effects of high-dose interferon- α -2a treatment for chronic hepatitis B. *Advances in Therapy* 2007 24:5, 24(5), 963–971. <https://doi.org/10.1007/BF02877700>
- Katla, S., & Sivaprakasam, S. (2019). Yeasts as Microbial Factories for Production of Recombinant Human

- Interferon Alpha 2b of Therapeutic Importance. *ACS Symposium Series*, 1329, 41–56.
<https://doi.org/10.1021/BK-2019-1329.CH003>
- Katla, S., Yoganand, K. N. R., Hingane, S., Ranjith Kumar, C. T., Anand, B., & Sivaprakasam, S. (2019). Novel glycosylated human interferon alpha 2b expressed in glycoengineered *Pichia pastoris* and its biological activity: N-linked glycoengineering approach. *Enzyme and Microbial Technology*, 128, 49–58.
<https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2019.05.007>
- Keirsse, J., Damme, H. Van, Ginderachter, J. A. Van, & Laoui, D. (2017). Exploiting tumor-associated dendritic cell heterogeneity for novel cancer therapies. *Journal of Leukocyte Biology*, 102(2), 317–324.
<https://doi.org/10.1189/JLB.4MR1116-466R>
- Khambhati, K., Bhattacharjee, G., Gohil, N., Braddick, D., Kulkarni, V., & Singh, V. (2019). Exploring the Potential of Cell-Free Protein Synthesis for Extending the Abilities of Biological Systems. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 7, p. 248). Frontiers Media S.A.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00248>
- Khan, A. H., Bayat, H., Rajabibazl, M., Sabri, S., & Rahimpour, A. (2016). Humanizing glycosylation pathways in eukaryotic expression systems. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 2016 33:1, 33(1), 1–12.
<https://doi.org/10.1007/S11274-016-2172-7>
- Kizuka, Y., & Taniguchi, N. (2016). Enzymes for N-Glycan Branching and Their Genetic and Nongenetic Regulation in Cancer. *Biomolecules* 2016, Vol. 6, Page 25, 6(2), 25.
<https://doi.org/10.3390/BIOM6020025>
- Kotenko, S. V., Gallagher, G., Baurin, V. V., Lewis-Antes, A., Shen, M., Shah, N. K., Langer, J. A., Sheikh, F., Dickensheets, H., & Donnelly, R. P. (2003). IFN- λ s mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. In *Nature Immunology* (Vol. 4, Issue 1, pp. 69–77). Nat Immunol.
<https://doi.org/10.1038/ni875>
- Kumar, R., & Singh, J. (2014). Biosimilar drugs: Current status. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 4(2), 63. <https://doi.org/10.4103/2229-516X.136774>
- Kunert, R., & Reinhart, D. (2016). Advances in recombinant antibody manufacturing. *Applied Microbiology and Biotechnology* 2016 100:8, 100(8), 3451–3461. <https://doi.org/10.1007/S00253-016-7388-9>
- Landowski, C. P. C., Mustalahti, E., Wahl, R., Croute, L., Sivasiddharthan, D., Westerholm-Parvinen, A., Sommer, B., Ostermeier, C., Helk, B., Saarinen, J., & Saloheimo, M. (2016). Enabling low cost biopharmaceuticals: High level interferon alpha-2b production in *Trichoderma reesei*. *Microbial Cell Factories*, 15(1), 104.
<https://doi.org/10.1186/s12934-016-0508-5>
- Lange, C. M., & Zeuzem, S. (2013, March 1). Perspectives and challenges of interferon-free therapy for chronic hepatitis C. *Journal of Hepatology*, 58(3), 583–592. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2012.10.019>
- Lara, Á. (2011, August). *Producción de proteínas recombinantes en Escherichia coli*. Revista Mexicana de Ingeniería Química. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000200006
- Lazar, A., Reuveny, S., Traub, A., Minai, M., Grosfeld, H., Feinstein, S., Gez, M., & Mizrahi, A. (1981). Factors affecting the large scale production of human lymphoblastoid interferon - PubMed. *Dev Biol Stand*, 50, 161–171. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/6176484/>
- Legastelois, I., Buffin, S., Peubez, I., Mignon, C., Sodoier, R., & Werle, B. (2016). Non-conventional expression systems for the production of vaccine proteins and immunotherapeutic molecules. <http://Dx.Doi.Org/10.1080/21645515.2016.1260795>, 13(4), 947–961.
<https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1260795>
- Lenis, Y., Ramón, N., Restrepo, J., Olivera, M., & Tarazona, A. (2010). Interferón tau en la ventana de reconocimiento materno embrionario bovino. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 13(1).
<https://doi.org/10.31910/rudca.v13.n1.2010.705>

- Lens, M. B., & Dawes, M. (2016). Interferon Alfa Therapy for Malignant Melanoma: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. *https://Doi.Org/10.1200/JCO.2002.07.070*, 20(7), 1818–1825. <https://doi.org/10.1200/JCO.2002.07.070>
- Lesage, S., Chazal, M., Beauclair, G., Batalie, D., Couderc, E., Lescure, A., Nery, E. Del, Tangy, F., Martin, A., Manel, N., & Jouvenet, N. (2021). Discovery of genes that modulate flavivirus replication in an interferon-dependent manner. *BioRxiv*, 2021.07.20.453077. <https://doi.org/10.1101/2021.07.20.453077>
- Leyva, E. P., Yaniela, M., Noguera, B., Madeleyne, J., & Leyva, O. (2017). Clinical and immunogenic response of Heberón treatment in patients with basal cell carcin. *Correo Científico Médico de Holguín*.
- Li, H., Yang, Y., Hong, W., Huang, M., Wu, M., & Zhao, X. (2020). Applications of genome editing technology in the targeted therapy of human diseases: mechanisms, advances and prospects. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 5, Issue 1, pp. 1–23). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41392-019-0089-y>
- Li, M. M. H., MacDonald, M. R., & Rice, C. M. (2015). To translate, or not to translate: viral and host mRNA regulation by interferon-stimulated genes. *Trends in Cell Biology*, 25(6), 320. <https://doi.org/10.1016/j.TCB.2015.02.001>
- Li, S. F., Gong, M. J., Zhao, F. R., Shao, J. J., Xie, Y. L., Zhang, Y. G., & Chang, H. Y. (2018). Type I interferons: Distinct biological activities and current applications for viral infection. In *Cellular Physiology and Biochemistry* (Vol. 51, Issue 5, pp. 2377–2396). S. Karger AG. <https://doi.org/10.1159/000495897>
- Li, S. fang, Zhao, F. rong, Shao, J. jun, Xie, Y. li, Chang, H. yun, & Zhang, Y. guang. (2017). Interferon-omega: Current status in clinical applications. In *International Immunopharmacology* (Vol. 52, pp. 253–260). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2017.08.028>
- Liechtenstein, T., Dufait, I., Lanna, A., Breckpot, K., & Escors, D. (2012). MODULATING CO-STIMULATION DURING ANTIGEN PRESENTATION TO ENHANCE CANCER IMMUNOTHERAPY. *Immunology, Endocrine & Metabolic Agents in Medicinal Chemistry*, 12(3), 224. [/pmc/articles/PMC3428911/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2428911/)
- Lin, F., & Young, H. A. (2014). Interferons: Success in anti-viral immunotherapy. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 25(4), 369. <https://doi.org/10.1016/j.CYTOGFR.2014.07.015>
- Lobstein, J., Emrich, C. A., Jeans, C., Faulkner, M., Riggs, P., & Berkmen, M. (2012). SHuffle, a novel Escherichia coli protein expression strain capable of correctly folding disulfide bonded proteins in its cytoplasm. *Microbial Cell Factories*, 11, 56. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-11-56>
- Lohray, B., Shah, S., Pandit, H., & Patel, M. (2006). US20060223145A1 - Método para producir polipéptido de interferón alfa 2b humano recombinante en pichia pastoris - Google Patents. 2006. <https://patents.google.com/patent/US20060223145A1/en>
- Loignon, M., Perret, S., Kelly, J., Boulais, D., Cass, B., Bisson, L., Afkhamizarreh, F., & Durocher, Y. (2008). Stable high volumetric production of glycosylated human recombinant IFNalpha2b in HEK293 cells. *BMC Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.1186/1472-6750-8-65>
- Long, G. V., Hauschild, A., Santinami, M., Atkinson, V., Mandalà, M., Chiarion-Sileni, V., Larkin, J., Nyakas, M., Dutriaux, C., Haydon, A., Robert, C., Mortier, L., Schachter, J., Schadendorf, D., Lesimple, T., Plummer, R., Ji, R., Zhang, P., Mookerjee, B., ... Kirkwood, J. M. (2017). Adjuvant Dabrafenib plus Trametinib in Stage III BRAF -Mutated Melanoma . *New England Journal of Medicine*, 377(19), 1813–1823. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1708539>
- López, J. (2015). *Descubrimiento del interferón (interferones)*. *Obituario de Jean Lindenmann - info-farmacia*. Info-Farmacia. <http://www.info-farmacia.com/ultimas-publicaciones/descubrimientodelinterferoninterferonesobituariodejeanlindenmann>
- López, R., Oggero, M., Ceaglio, N., Etcheverrigaray, M., & Kratje, R. (2008, January 3). WO2008000881A1 - Muteínas del interferón alfa humano glicosiladas, su procedimiento de obtención y utilización. - Google Patents. Protech Pharma S.A. <https://patents.google.com/patent/WO2008000881A1/es>

- Löseke, S., Grage-Griebenow, E., Wagner, A., Gehlhar, K., & Bufe, A. (2002). *Recombinant Technology Differential expression of IFN- α subtypes in human PBMC: evaluation of novel real-time PCR assays*. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(03\)00072-3](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(03)00072-3)
- Losev, Y., Frenkel-Pinter, M., Abu-Hussien, M., Viswanathan, G. K., Elyashiv-Revivo, D., Geries, R., Khalaila, I., Gazit, E., & Segal, D. (2020). Differential effects of putative N-glycosylation sites in human Tau on Alzheimer's disease-related neurodegeneration. *Cellular and Molecular Life Sciences* 2020 78:5, 78(5), 2231–2245. <https://doi.org/10.1007/S00018-020-03643-3>
- Lotfi, H., Sheervalilou, R., & Zarghami, N. (2018). An update of the recombinant protein expression systems of Cyanovirin-N and challenges of preclinical development. *BioImpacts*, 8(2), 139–151. <https://doi.org/10.15171/bi.2018.16>
- Ma, J. (2012). *Effect of Alferon N on replication of influenza A viruses in cell cultures*. <https://krex.k-state.edu/dspace/handle/2097/14177>
- Malhotra, P. (2016). Alopecia Universalis- An Unpleasant Reality with Interferon Alfa-2b and Ribavirin Treatment for Hepatitis C. *Advanced Research in Gastroenterology & Hepatology*, 1(3), 3–6. <https://doi.org/10.19080/argh.2016.01.555564>
- Malmgaard, L. (2004). Induction and regulation of IFNs during viral infections. *Journal of Interferon and Cytokine Research*, 24(8), 439–454.
- Mancano, M. (2013). Furosemide-Induced Immune Thrombocytopenia; Type I Interferon-Induced Ischemic Colitis; Dronedarone-Associated Acute Renal Failure; Modafinil-Induced Psychosis: <Http://Dx.Doi.Org/10.1310/Hpj4811-901>, 48(11), 901–904. <https://doi.org/10.1310/HPJ4811-901>
- Manchado Garabito, R., Tamames Gómez, S., López González, M., Macías, L. M., D'agostino, M., & Veiga De Cabo, J. (2009). Revisión Sistemática Exploratoria Scoping review. In *Med Segur Trab (Internet)* (Vol. 55, Issue 216).
- Marcocci, C., & Rocchi, R. (2004). Encyclopedia of Endocrine Diseases. *Encyclopedia of Endocrine Diseases*, 543–550. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B012475570401307X>
- Marín-Sánchez, O., Vivas-ruiz, D. E., Sandoval, G. A., Neira, M., Marín-Machuca, O., Rodríguez-Landauro, A., & Chacón, R. D. (2019). Rol de los interferones tipo I y tipo III : Una revisión de conceptos. *Ágora Revista Científica*, 06(February), 0–8. <https://revistaagora.com/index.php/cieUMA/article/view/133>
- Marín-Sánchez, O., Vivas-Ruiz, D., Neira, M., Sandoval, G. A., Marín-Machuca, O., Juliet Rodríguez-Landauro, A., Chacón, R. D., & Nacional Federico Villarreal Lima -Perú, U. (2020). Rol de los interferones tipo I y tipo III: Una revisión de conceptos Role of type I and type III interferons: A review of concepts. In *Ágora Revista Científica* (Vol. 6, Issue 2). <https://revistaagora.com/index.php/cieUMA/article/view/133>
- Matulonis, U. A., Sood, A. K., Fallowfield, L., Howitt, B. E., Sehoul, J., & Karlan, B. Y. (2016). Ovarian cancer. *Nature Reviews Disease Primers*, 2, 1–22. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.61>
- Maunsell, R., & Bellomo-Brandão, M. A. (2017). Pegylated interferon for treating severe recurrent respiratory papillomatosis in a child: case report. *Sao Paulo Medical Journal*, 136(4), 376–381. <https://doi.org/10.1590/1516-3180.2017.0031240317>
- Mayo, C. S., Matuszak, M. M., Schipper, M. J., Jolly, S., Hayman, J. A., & Ten Haken, R. K. (2017). Big data in designing clinical trials: Opportunities and challenges. *Frontiers in Oncology*, 7(AUG), 187. <https://doi.org/10.3389/fonc.2017.00187>
- Mayolo-Deloisa, K., Martínez, L., & Rito-Palomares, M. (2012). Técnicas cromatográficas y su aplicación a estudios de cambios conformacionales, estabilidad y replegamiento de proteínas. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000300006
- Mazana, J. S. (2013). *El interferón en el tratamiento de la hepatitis C crónica Inmunobiología básica e*

- inmunopatología del hígado*. Revista Española de Sanidad Penitenciaria.
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1575-06202013000100004
- McGlynn, K. A., & London, W. T. (2011). The Global Epidemiology of Hepatocellular Carcinoma, Present and Future. *Clinics in Liver Disease*, 15(2), 223. <https://doi.org/10.1016/J.CLD.2011.03.006>
- McNab, F., Mayer-Barber, K., Sher, A., Wack, A., & O'Garra, A. (2015). Type I interferons in infectious disease. *Nature Reviews Immunology*, 15(2), 87–103. <https://doi.org/10.1038/nri3787>
- Medrano, R. F. V., Hunger, A., Mendonça, S. A., Barbuto, J. A. M., & Strauss, B. E. (2017). Immunomodulatory and antitumor effects of type I interferons and their application in cancer therapy. *Oncotarget*, 8(41), 71249. <https://doi.org/10.18632/ONCOTARGET.19531>
- Mendelsohn, J., & Gray, J. (2014). The Molecular Basis of Cancer. *Science Direct*.
<https://www.sciencedirect.com/book/9781455740666/the-molecular-basis-of-cancer>
- Mennechet, F. J. D., & Uzé, G. (2006). Interferon- λ -treated dendritic cells specifically induce proliferation of FOXP3-expressing suppressor T cells. *Blood*, 107(11), 4417–4423. <https://doi.org/10.1182/blood-2005-10-4129>
- Mesripour, A., Shahnooshi, S., & Hajhashemi, V. (2020). Celecoxib, ibuprofen, and indomethacin alleviate depression-like behavior induced by interferon- α in mice. *Journal of Complementary and Integrative Medicine*, 17(1). <https://doi.org/10.1515/JCIM-2019-0016>
- Miller, C. H. T., Maher, S. G., & Young, H. A. (2009). Clinical Use of Interferon- γ . *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1182, 69. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.2009.05069.X>
- Milton Harris, J., Martin, N. E., & Modi, M. (2001). Pegylation: A novel process for modifying pharmacokinetics. In *Clinical Pharmacokinetics* (Vol. 40, Issue 7, pp. 539–551). Adis International Ltd.
<https://doi.org/10.2165/00003088-200140070-00005>
- Miyake, H., Kurahashi, T., Takenaka, A., Inoue, T. aki, & Fujisawa, M. (2009). Clinical outcome of combined immunotherapy with interferon- α and low-dose interleukine-2 for Japanese patients with metastatic renal cell carcinoma. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, 27(6), 598–603.
<https://doi.org/10.1016/J.UROLONC.2008.07.023>
- Mocellin, S., Lens, M. B., Pasquali, S., Pilati, P., & Chiarion Sileni, V. (2013, June 18). Interferon alpha for the adjuvant treatment of cutaneous melanoma. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2013(6).
<https://doi.org/10.1002/14651858.CD008955.pub2>
- Molina, M., & Ochoa, C. (2014). Ensayo clínico (I). Definición. Tipos. Estudios cuasiexperimentales - Evidencias en pediatría. *Bases of Evidence Based Medicine*, 10(3).
<https://evidenciasenpediatria.es/articulo.php?lang=en&id=6564>
- Moncada-Hernández, S. (2014). Correspondencia: Circuito Exterior s. *Inv Ed Med*, 3(10), 106–115.
<http://riem.facmed.unam.mx>
- Moredo, E., Moreira, M., & Pérez, A. (2004). *Uso de los interferones en Dermatología: experiencia con el alfa-interferon en la micosis fungoide*. Revista Cubana de Farmacia.
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152004000200007
- Muir, A., Arora, S., G, E., R, F., J, G., R, G., SC, G., T, G., S, G., T, H., J, H., MA, H., IM, J., L, J., KV, K., E, L., S, L., M, R.-T., V, R., ... S, Z. (2014). A randomized phase 2b study of peginterferon lambda-1a for the treatment of chronic HCV infection. *Journal of Hepatology*, 61(6), 1238–1246.
<https://doi.org/10.1016/J.JHEP.2014.07.022>
- Mulvey, A. (2015, April 9). *FDA-Approved Cancer Immunotherapies and CRI's Impact - Cancer Research Institute (CRI)*. <https://www.cancerresearch.org/en-us/blog/april-2015/fda-approved-cancer-immunotherapies-cris-impact>
- Murphy, T., Grajales-Reyes, G., X, W., R, T., CG, B., A, I., NM, K., V, D., & KM, M. (2016). Transcriptional Control

- of Dendritic Cell Development. *Annual Review of Immunology*, 34, 93–119. <https://doi.org/10.1146/ANNUREV-IMMUNOL-032713-120204>
- Nallar, S. C., & Kalvakolanu, D. V. (2014). Interferons, signal transduction pathways, and the central nervous system. In *Journal of Interferon and Cytokine Research* (Vol. 34, Issue 8, pp. 559–576). Mary Ann Liebert Inc. <https://doi.org/10.1089/jir.2014.0021>
- Nardelli, B., Zaritskaya, L., Semenuk, M., Cho, Y. H., LaFleur, D. W., Shah, D., Ullrich, S., Girolomoni, G., Albanesi, C., & Moore, P. A. (2002). Regulatory Effect of IFN- κ , A Novel Type I IFN, On Cytokine Production by Cells of the Innate Immune System. *The Journal of Immunology*, 169(9), 4822–4830. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.169.9.4822>
- Navarrete-Dechent, C., Ortega, R., Fich, F., & Concha, M. (2015). Manifestaciones dermatológicas asociadas a la infección por VIH/SIDA. *Revista Chilena de Infectología*, 32, 57–71. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182015000100005>
- Nicholson, L. B. (2016). The immune system. *Essays in Biochemistry*, 60(3), 275. <https://doi.org/10.1042/EBC20160017>
- Ningrum, R. A., & Asmana Ningrum, R. (2014). Human Interferon Alpha-2b: A Therapeutic Protein for Cancer Treatment. *Scientifica*, 2014, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2014/970315>
- Nishio, A., Bolte, F. J., Takeda, K., Park, N., Yu, Z. X., Park, H., Valdez, K., Ghany, M. G., & Rehmann, B. (2021). Clearance of pegylated interferon by Kupffer cells limits NK cell activation and therapy response of patients with HBV infection. *Science Translational Medicine*, 13(587). <https://doi.org/10.1126/SCITRANSLMED.ABA6322>
- Nodarse-Cuní, Hugo, & López-Saura, P. A. (2017). Cuban interferon alpha-2b. Thirty years as an effective and safe drug. In *Bioteología Aplicada* (Vol. 34, Issue 1).
- Noureddin, M., & Ghany, M. G. (2010). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Peginterferon and Ribavirin: Implications for Clinical Efficacy in Treatment of Chronic Hepatitis C. *Gastroenterology Clinics of North America*, 39(3), 649. <https://doi.org/10.1016/J.GTC.2010.08.008>
- Okajima, A., Yamaguchi, K., Taketani, H., Hara, T., H, I., Y, S., T, N., T, N., H, F., M, M., H, M., Y, S., K, Y., M, M., & Y, I. (2015). Drug-induced liver injury in a chronic hepatitis C patient treated by peginterferon, ribavirin and simeprevir. *Hepatology Research : The Official Journal of the Japan Society of Hepatology*, 45(10), E156–E160. <https://doi.org/10.1111/HEPR.12477>
- Oliver Ingold, David Pfister, & Massimo Morbidelli. (2016). A reactive continuous chromatographic process for protein PEGylation. *Reaction Chemistry & Engineering*, 1(2), 218–228. <https://doi.org/10.1039/C5RE00055F>
- Olivier, J.-C., Huertas, R., Lee, H. J., Calon, F., & Pardridge, W. M. (2002). Synthesis of Pegylated Immunonanoparticles. *Pharmaceutical Research* 2002 19:8, 19(8), 1137–1143. <https://doi.org/10.1023/A:1019842024814>
- Organización Mundial de la Salud, & OMS. (2020, July 27). *Hepatitis B*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>
- Ortega García, M., & Ortega González, E. (2016). Tratamiento libre de interferón de la infección por virus de la hepatitis C por manifestaciones extrahepáticas: vasculitis leucocitoclástica. *Revista Española de Quimioterapia*, 29(1), 44–46. https://seq.es/wp-content/uploads/2015/02/seq_0214-3429_29_1_ortega19jan2016.pdf
- Overall, S. A., Bourges, D., Driel, I. R. van, & Gleeson, P. A. (2017). Increased endogenous antigen presentation in the periphery enhances susceptibility to inflammation-induced gastric autoimmunity in mice. *European Journal of Immunology*, 47(1), 155–167. <https://doi.org/10.1002/EJI.201646572>
- Owczarek, B., Gerszberg, A., & Hnatuszko-Konka, K. (2019). A Brief Reminder of Systems of Production and

Chromatography-Based Recovery of Recombinant Protein Biopharmaceuticals. *BioMed Research International*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4216060>

- P, R., F, M., & F, B. (2010). Recent advances on the immunomodulatory effects of IFN-alpha: implications for cancer immunotherapy and autoimmunity. *Autoimmunity*, 43(3), 204–209. <https://doi.org/10.3109/08916930903510880>
- Páez B, M., Rodríguez-Riveros, M. I., Kasamatsu, E., Castro, A., Orué, E., Lampert, N., Ruoti, M., Sequera, M., Giménez, G., Mendoza, L., Mongelós, P., Valenzuela, A., & Leguizamón S, M. A. (2016). Conocimientos, actitudes y prácticas sobre virus de papiloma humano (VPH) y cáncer de cuello uterino en mujeres de 30 y más años de edad, de un barrio ribereño de Asunción, (Bañado Sur). 2012. *Revista de La Universidad Industrial de Santander. Salud*, 48(1), 37–44. <https://doi.org/10.18273/REVSAL.V48N1-2016004>
- Page, C., Genin, P., Baines, M., & Hiscott, J. (2000). Interferon activation and innate immunity. *Rev Immunogenet*, 2(3), 374–386. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11256746/>
- Pasquali, S., & Mocellin, S. (2012). The Anticancer Face of Interferon Alpha (IFN-Alpha): From Biology to Clinical Results, with a Focus on Melanoma. *Current Medicinal Chemistry*, 17(29), 3327–3336. <https://doi.org/10.2174/092986710793176393>
- Peciak, K., Tommasi, R., Choi, J. W., Brocchini, S., & Laurine, E. (2014). Expression of soluble and active interferon consensus in SUMO fusion expression system in E. coli. *Protein Expression and Purification*, 99, 18–26.
- Peebo, K., & Neubauer, P. (2018). Application of Continuous Culture Methods to Recombinant Protein Production in Microorganisms. *Microorganisms*, 6(3), 56. <https://doi.org/10.3390/microorganisms6030056>
- Pelaz, B., Alexiou, C., Alvarez-Puebla, R. A., Alves, F., Andrews, A. M., Ashraf, S., Balogh, L. P., Ballerini, L., Bestetti, A., Brendel, C., Bosi, S., Carril, M., Chan, W. C. W., Chen, C., Chen, X., Chen, X., Cheng, Z., Cui, D., Du, J., ... Parak, W. J. (2017). Diverse Applications of Nanomedicine. *ACS Nano*, 11(3), 2313–2381. <https://doi.org/10.1021/acsnano.6b06040>
- Pérez-Cerdá, C., Girós, M. ^{al}, Serrano, M., Dueñas, B. P., Eca, M. ^{aj}, Medrano, C., Gort, L., & Pérez González, B. (2015). *Trastornos de la glicosilación*.
- Pestka, S., Krause, C., & Walter, M. (2004). Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunological Reviews*, 202, 8–32. <https://doi.org/10.1111/J.0105-2896.2004.00204.X>
- Petrov, S., Nacheva, G., & Ivanov, I. (2010). Purification and refolding of recombinant human interferon-gamma in urea-ammonium chloride solution. *Protein Expression and Purification*, 73(1), 70–73. <https://doi.org/10.1016/j.pep.2010.03.026>
- Pfister, D., Ingold, O., & Morbidelli, M. (2016). Model-based development of an on-column PEGylation process. *Reaction Chemistry & Engineering*, 1(2), 204–217. <https://doi.org/10.1039/C5RE00019J>
- Piantadosi, S. (2017). *Clinical Trials: A Methodologic Perspective*. Jhon Wiley & Sons, Inc. https://books.google.com.ec/books?hl=es&lr=&id=b4stDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR25&dq=clinical+trials+concepts+and+methodologies&ots=Zdv4wSPE0u&sig=581K6xLG__jf3NMEsAYJnPKtbYM#v=onepage&q=clinical+trials+concepts+and+methodologies&f=false
- Ping, R., Sin Teoh, L., Kwai Chan, M., Miswan, N., & Yin Khoo, B. (2016). Comparing the expression of human DNA topoisomerase I in KM71H and X33 strains of *Pichia pastoris*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 19(3), 01–09. <https://doi.org/10.1016/J.EJBT.2016.01.007>
- Platanitis, E., Demiroz, D., Schneller, A., Fischer, K., Capelle, C., Hartl, M., Gossenreiter, T., Müller, M., Novatchkova, M., & Decker, T. (2019). A molecular switch from STAT2-IRF9 to ISGF3 underlies interferon-induced gene transcription. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–17. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10970-y>

- Platis, D., & Foster, G. R. (2006). Interferon Proteins: Structure, Production and Purification. In *The Interferons* (pp. 73–83). Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA. <https://doi.org/10.1002/3527608206.ch3>
- Pogue, S., Bi, M., Armanini, M., Fathollahi, M., Taura, T., Valencia, M., Yun, Y., Sho, A., Jamin, A., Nock, S., & Wilson, D. (2017). Attenuated Interferon- α Targeted to CD38 Expressing Multiple Myeloma Tumor Cells Induces Robust and Durable Anti-Tumor Responses through Direct Anti-Proliferative Activity in Addition to Indirect Recruitment and Activation of M1 Macrophages. *Blood*, *130*, 3112. https://doi.org/10.1182/BLOOD.V130.SUPPL_1.3112.3112
- Quaresma, A., Queiroz, J. A., & Passarinha, L. A. (2019). Smoothing membrane protein structure determination by initial upstream stage improvements. *Applied Microbiology and Biotechnology* *2019* *103:14*, *103(14)*, 5483–5500. <https://doi.org/10.1007/S00253-019-09873-1>
- Quintero, D., & Ruiz, J. (2018). *EVENTOS ADVERSOS Y PROBLEMAS RELACIONADOS CON MEDICAMENTOS INTERFERONES REPORTADOS EN BOGOTÁ D.C. 2008 – 2017*. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/1003/1/TRABAJO_DE_GRADO_INTERFERONES.pdf
- Ramón, J. A., Peniche, C., Castro, F. R., Sáez, V. M., Colas, R. M., & Páez, R. (2009). A reproducible method for obtaining a 2-arms monofunctional peg with high purity. *Química Nova*, *32(6)*, 1426–1431. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422009000600012>
- Ramos-Bello, F., & Ramos-Niembro, D. (2008). *Interferón: 50 años después (1957-2007)* (Vol. 144, Issue 1). www.anmm.org.mx
- Rantasalo, A., Vitikainen, M., Paasikallio, T., Jäntti, J., Landowski, C. P., & Mojzita, D. (2019). Novel genetic tools that enable highly pure protein production in *Trichoderma reesei*. *Scientific Reports*, *9(1)*, 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41573-8>
- Ravcheev, D. A., & Thiele, I. (2017). Comparative Genomic Analysis of the Human Gut Microbiome Reveals a Broad Distribution of Metabolic Pathways for the Degradation of Host-Synthesized Mucin Glycans and Utilization of Mucin-Derived Monosaccharides. *Frontiers in Genetics*, *0(AUG)*, 111. <https://doi.org/10.3389/FGENE.2017.00111>
- RCT. (2012, August 31). *Prueba Pichia GlycoSwitch®: Plataforma de expresión para la producción de proteínas: glicosilación controlada similar a la humana | Plataforma de expresión de proteínas de Pichia Pastoris: expresión de proteínas eucariotas*. <https://pichia.com/try-pichia/try-pichia-glycoswitch/>
- Reichman, R. C., Micha, J. P., Weck, P. K., Bonnez, W., Wold, D., Whisnant, J. K., Mounts, P., Trofatter, K. F., Kucera, P., & Gall, S. A. (1988). Interferon alpha-n1 (wellferon) for refractory genital warts: Efficacy and tolerance of low dose systemic therapy. *Antiviral Research*, *10(1–3)*, 41–57. [https://doi.org/10.1016/0166-3542\(88\)90013-7](https://doi.org/10.1016/0166-3542(88)90013-7)
- Riccetti, L., Sperduti, S., Lazzaretti, C., Klett, D., De Pascali, F., Paradiso, E., Limoncella, S., Potì, F., Tagliavini, S., Trenti, T., Galano, E., Palmese, A., Satwekar, A., Daolio, J., Nicoli, A., Villani, M. T., Aguzzoli, L., Reiter, E., Simoni, M., & Casarini, L. (2019). Glycosylation Pattern and in vitro Bioactivity of Reference Follitropin alfa and Biosimilars. *Frontiers in Endocrinology*, *0*, 503. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2019.00503>
- Ringelhan, M., McKeating, J. A., & Protzer, U. (2017, October 19). Viral hepatitis and liver cancer. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, *372(1732)*. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0274>
- Roberts, E., Broz, M., Binnewies, M., MB, H., AE, N., DM, W., T, K., D, B., N, B., & MF, K. (2016). Critical Role for CD103(+)/CD141(+) Dendritic Cells Bearing CCR7 for Tumor Antigen Trafficking and Priming of T Cell Immunity in Melanoma. *Cancer Cell*, *30(2)*, 324–336. <https://doi.org/10.1016/J.CCELL.2016.06.003>
- Robinson, M.-P., Ke, N., Lobstein, J., Peterson, C., Szkodny, A., Mansell, T. J., Tuckey, C., Riggs, P. D., Colussi, P. A., Noren, C. J., Taron, C. H., Delisa, M. P., & Berkmen, M. (2015). *ARTICLE Efficient expression of full-length antibodies in the cytoplasm of engineered bacteria*. <https://doi.org/10.1038/ncomms9072>

- Roche, & PSUR. (2012). *EU PSUR Work Sharing Final Assessment Report Roferon-A (Interferon alfa-2a) NL/H/PSUR/0044/002 NL - PDF Free Download*. <https://docplayer.net/20618299-Eu-psur-work-sharing-final-assessment-report-roferon-a-interferon-alfa-2a-nl-h-psur-0044-002-nl.html>
- Rönblom, L., & Leonard, D. (2019). Interferon pathway in SLE: One key to unlocking the mystery of the disease. *Lupus Science and Medicine*, *6*(1), 270. <https://doi.org/10.1136/lupus-2018-000270>
- Rosano, G. L., & Ceccarelli, E. A. (2014). Recombinant protein expression in Escherichia coli: advances and challenges. *Frontiers in Microbiology*, *0*(APR), 172. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2014.00172>
- Rossmann, C., Sharp, N., Allen, G., & Gewert, D. (1996). Expression and purification of recombinant, glycosylated human interferon alpha 2b in murine myeloma NSo cells. *Protein Expression and Purification*, *7*(4), 335–342. <https://doi.org/10.1006/prep.1996.0050>
- Ruiz, D. (2016). *Mendeley*. <https://www.um.es/documents/793464/1247777/Manual+Mendeley+noviembre+2015/8160c2f9-5df2-4f44-879a-849062f5e695>
- Ruiz, E. (2019, March 19). *Programación con R - RStudio*. <https://www.rstudio.com/resources/webinars/programacio-n-con-r/>
- Ryff, J.-C., & Pestka, S. (2013). Interferons and Interleukins. *Pharmaceutical Biotechnology: Fundamentals and Applications, Fourth Edition*, 413–437. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-6486-0_21
- Saadeh, D., Kurban, M., & Abbas, O. (2016). Plasmacytoid dendritic cell role in cutaneous malignancies. *Journal of Dermatological Science*, *83*(1), 3–9. <https://doi.org/10.1016/J.JDERMSCI.2016.05.008>
- Salmon, H., Idoyaga, J., Rahman, A., Leboeuf, M., Remark, R., Jordan, S., Casanova-Acebes, M., Khudoynazarova, M., Agudo, J., Tung, N., Chakarov, S., Rivera, C., Hogstad, B., Bosenberg, M., Hashimoto, D., Gnjatic, S., Bhardwaj, N., Palucka, A. K., Brown, B. D., ... Merad, M. (2016). Expansion and activation of CD103+ dendritic cell progenitors at the tumor site enhances tumor responses to therapeutic PD-L1 and BRAF inhibition. *Immunity*, *44*(4), 924. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2016.03.012>
- Samuel, C. (2001). Antiviral actions of interferons. *Clinical Microbiology Reviews*, *14*(4), 778–809. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.778-809.2001>
- Schaber, B., Mayer, P., Schreiner, T., Rassner, G., & Flerlbeck, G. (1994). Anti-proliferative activity of natural interferonalpha, isotretinoin and their combination varies in different human melanoma cell lines. *Melanoma Research*, *4*(5), 321–326. <https://doi.org/10.1097/00008390-199410000-00009>
- Schaefer, M., Engelbrechta, M. A., Gut, O., Fiebich, B. L., Bauer, J., Schmidt, F., Grunze, H., & Lieb, K. (2002). Interferon alpha (IFN α) and psychiatric syndromes: A review. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, *26*(4), 731–746. [https://doi.org/10.1016/S0278-5846\(01\)00324-4](https://doi.org/10.1016/S0278-5846(01)00324-4)
- Schau, I., Michen, S., Hagstotz, A., Janke, A., Schackert, G., Appelhans, D., & Temme, A. (2019). Targeted delivery of TLR3 agonist to tumor cells with single chain antibody fragment-conjugated nanoparticles induces type I-interferon response and apoptosis. *Scientific Reports 2019 9:1*, *9*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40032-8>
- Schijns, V. (2017). *Chapter 1 - Vaccine Adjuvants' Mode of Action: Unraveling "the Immunologist's Dirty Little Secret" BT - Immunopotentiators in Modern Vaccines (Second Edition)*. 1–22. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128040195000013>
- Schjoldager, K. T., Narimatsu, Y., Joshi, H. J., & Clausen, H. (2020). Global view of human protein glycosylation pathways and functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology 2020 21:12*, *21*(12), 729–749. <https://doi.org/10.1038/s41580-020-00294-x>
- Schultze-Seemann, W., Schulz, H., Tschene, B., & Häckl, M. (2019). Bevacizumab plus IFN-alpha-2a in first-line treatment of patients with advanced or metastatic renal cell carcinoma: A prospective German non-

- interventional study. *Anticancer Research*, 39(2), 875–882. <https://doi.org/10.21873/anticancer.13188>
- Sedano, E., & Serra, J. (2003). Farmacovigilància Butlletí de de Catalunya Efectos secundarios de los interferones pegilados. *Sanitat Generalitat De Catalunya*, 1. <http://www.gencat.es/sanitat/>
- Sekulic, A., Migden, M. R., Oro, A. E., Dirix, L., Lewis, K. D., Hainsworth, J. D., Solomon, J. A., Yoo, S., Arron, S. T., Friedlander, P. A., Marmur, E., Rudin, C. M., Chang, A. L. S., Low, J. A., Mackey, H. M., Yauch, R. L., Graham, R. A., Reddy, J. C., & Hauschild, A. (2012). Efficacy and Safety of Vismodegib in Advanced Basal-Cell Carcinoma. *New England Journal of Medicine*, 366(23), 2171–2179. <https://doi.org/10.1056/nejmoa1113713>
- Selas Castiñeiras, T., Williams, S. G., Hitchcock, A. G., & Smith, D. C. (2018). E. coli strain engineering for the production of advanced biopharmaceutical products. *FEMS Microbiology Letters*, 365(15), 162. <https://academic.oup.com/femsle/article/365/15/fny162/5049002>
- Serrano-Rivero, Y., Marrero-Domínguez, R., & Fando-Calzada, K. (2016). Pichia pastoris: una plataforma para la producción de proteínas heterólogas. In *Revista CENIC Ciencias Biológicas* (Vol. 47, Issue 2).
- Shechter, Y., Preciado-Patt, L., Schreiber, G., & Fridkin, M. (2001). Prolonging the half-life of human interferon-alpha 2 in circulation: Design, preparation, and analysis of (2-sulfo-9-fluorenylmethoxycarbonyl)7-interferon-alpha 2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 98(3), 1212–1217. <https://doi.org/10.1073/PNAS.98.3.1212>
- Shin, C. S., Hong, M. S., Shin, H. C., & Lee, J. (2001). High-level production of recombinant human IFN- α 2a with co-expression of tRNA^{Arg}(AGG/AGA) in high-cell-density cultures of Escherichia coli. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 6(4), 301–305. <https://doi.org/10.1007/BF02931994>
- Shrestha, R., McKinley, C., Billir, B., & Everson, G. (1995). Possible Idiopathic Thrombocytopenic Purpura Associated with Natural Alpha Interferon Therapy for Chronic Hepatitis C Infection. *American Journal of Gastroenterology*, 90(7), 1146–1147. <https://web.b.ebscohost.com/abstract?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=00029270&AN=16060055&h=yEgOXASTggD6AZSmtTiHczyzfkB3xEkerccyZUtcgaBv7TWQbXZjTAsGMLqrA9yox2zAibewMdwHdwt6DtdOdQ%3D%3D&crl=c&resultNs=AdminWebAuth&resultLocal=ErrCrlNotAuth&crlhashurl=login.aspx%3Fdirect%3Dtrue%26profile%3Dehost%26scope%3Dsite%26authtype%3Dcrawler%26jrnl%3D00029270%26AN%3D16060055>
- Silva, A. C., & Lobo, J. M. S. (2019). Cytokines and Growth Factors. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 171, 87–113. https://doi.org/10.1007/10_2019_105
- Singh, A., Upadhyay, V., Upadhyay, A. K., Singh, S. M., & Panda, A. K. (2015). Protein recovery from inclusion bodies of Escherichia coli using mild solubilization process. In *Microbial Cell Factories* (Vol. 14, Issue 1, p. 41). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0222-8>
- Sinsky, A. J., Fleischaker, R. J., Tyo, M. A., Giard, D. J., & Wang, D. I. C. (1981). PRODUCTION OF CELL-DERIVED PRODUCTS: VIRUS AND INTERFERON*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 369(1), 47–59. <https://doi.org/10.1111/J.1749-6632.1981.TB14176.X>
- Skinner, M. (2018). *Encyclopedia of Reproduction | ScienceDirect*. <https://www.sciencedirect.com/referencework/9780128151457/encyclopedia-of-reproduction>
- Skinner, M., & Jegou, B. (2018). *Encyclopedia of Reproduction (Second Edition)*. Elsevier, 2, 3868. https://books.google.com.my/books/about/Encyclopedia_of_Reproduction.html?id=m4RIDwAAQBAJ&printsec=frontcover&source=kp_read_button&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
- Sleijfer, S., Bannink, M., Van Gool, A. R., Kruit, W. H. J., & Stoter, G. (2005). Side effects of interferon- α therapy. In *Pharmacy World and Science* (Vol. 27, Issue 6, pp. 423–431). Springer. <https://doi.org/10.1007/s11096-005-1319-7>
- Sokal, E. M., Paganelli, M., Wirth, S., Socha, P., Vajro, P., Lacaille, F., Kelly, D., & Mieli-Vergani, G. (2013). Management of chronic hepatitis B in childhood: ESPGHAN clinical practice guidelines: Consensus of an

- expert panel on behalf of the European Society of Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *Journal of Hepatology*, 59(4), 814–829. <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.05.016>
- Some, D., Amartely, H., Tsadok, A., & Lebendiker, M. (2019). Characterization of proteins by size-exclusion chromatography coupled to multi-angle light scattering (Sec-mals). *Journal of Visualized Experiments*, 2019(148). <https://doi.org/10.3791/59615>
- Sotoca, J. M. (1999). Cuarenta años de interferones. *Farmacia Hospitalaria*, 23(4), 205–213. <https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-hospitalaria-121-articulo-cuarenta-anos-interferones-13005191>
- Standfuss, J., Edwards, P. C., D'Antona, A., Fransen, M., Xie, G., Oprian, D. D., & Schertler, G. F. X. (2013). Crystal structure of constitutively active rhodopsin: How an agonist can activate its GPCR. *Nature*, 471(7340), 656. <https://doi.org/10.1038/NATURE09795>
- Stankovic, B., Surbatovic, M., Stojanovic, G., Mihajlovic, M., Tambur, Z., Kulisic, Z., & Markovic, M. (2011). (PDF) Treatment for production of interferon-alpha (ifn- α) and interferon-gamma (ifn- γ) from the same purified suspension of leukocytes. *Scientific Research and Essays*, 6(7), 1522–1529. https://www.researchgate.net/publication/228500411_Treatment_for_production_of_interferon-alpha_ifn-a_and_interferon-gamma_ifn-g_from_the_same_purified_suspension_of_leukocytes
- Stranegård, Ö. (1999). Interferons and their Therapeutic Applications. In *EJIFCC* (Vol. 11, Issue 3). International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. </pmc/articles/PMC6351751/?report=abstract>
- Su, K. P., Lai, H. C., Peng, C. Y., Su, W. P., Chang, J. P. C., & Pariante, C. M. (2019). Interferon-alpha-induced depression: Comparisons between early- and late-onset subgroups and with patients with major depressive disorder. *Brain, Behavior, and Immunity*, 80, 512–518. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2019.04.032>
- Syedbasha, M., & Egli, A. (2017). Interferon Lambda: Modulating immunity in infectious diseases. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 8, Issue FEB, p. 119). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2017.00119>
- Tang, M., Tian, L., Luo, G., & Yu, X. (2018). Interferon-gamma-mediated osteoimmunology. In *Frontiers in Immunology* (Vol. 9, Issue JUN, p. 1). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.01508>
- Taylor, M. W. (2014). Interferons. *Viruses and Man: A History of Interactions*, 101. https://doi.org/10.1007/978-3-319-07758-1_7
- Testa, D., Liao, M., Ferencz-Biro, K., Rashidbaigi, A., DiPaola, M., & Padhye, M. (1993). US5503828A - Composición de interferón alfa y método para su producción a partir de leucocitos de sangre periférica humana - Patentes de Google. AIM Immunotech Inc. <https://patents.google.com/patent/US5503828A>
- Ting, W.-W., Tan, S.-I., & Ng, I.-S. (2020). Development of chromosome-based T7 RNA polymerase and orthogonal T7 promoter circuit in Escherichia coli W3110 as a cell factory. *Bioresources and Bioprocessing* 2020 7:1, 7(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/S40643-020-00342-6>
- Toro-Montoya, A. I., & Tapia-Vela, L. J. T.-V. (2021). Virus del papiloma humano (VPH) y cáncer. *Medicina y Laboratorio*, 25(2), 467–483. <https://doi.org/10.36384/01232576.431>
- Trinchieri, G. (2010). Type I interferon: Friend or foe? In *Journal of Experimental Medicine* (Vol. 207, Issue 10, pp. 2053–2063). The Rockefeller University Press. <https://doi.org/10.1084/jem.20101664>
- Tripathi, N. K., & Shrivastava, A. (2019). Recent Developments in Bioprocessing of Recombinant Proteins: Expression Hosts and Process Development. In *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* (Vol. 7, p. 420). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00420>
- Uhoraningoga, A., Kinsella, G. K., Henahan, G. T., & Ryan, B. J. (2018). The goldilocks approach: A review of employing design of experiments in prokaryotic recombinant protein production. In *Bioengineering* (Vol.

- 5, Issue 4, p. 89). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/bioengineering5040089>
- Universidad de Zaragoza. (2020). *GUÍA BÁSICA DEL GESTOR BIBLIOGRÁFICO MENDELEY (Act. 27 de abril de 2020)*.
https://biblioteca.unizar.es/sites/biblioteca.unizar.es/files/mendeley/mendeley_guia_derecho.pdf
- Valente, C. A., Monteiro, G. A., Cabral, J. M. S., Fevereiro, M., & Prazeres, D. M. F. (2006). Optimization of the primary recovery of human interferon $\alpha 2b$ from *Escherichia coli* inclusion bodies. *Protein Expression and Purification*, *45*(1), 226–234. <https://doi.org/10.1016/J.PEP.2005.06.014>
- Van, J. A. D., Clotet-Freixas, S., Hauschild, A.-C., Batruch, I., Jurisica, I., Elia, Y., Mahmud, F. H., Sochett, E., Diamandis, E. P., Scholey, J. W., & Konvalinka, A. (2020). Urinary proteomics links keratan sulfate degradation and lysosomal enzymes to early type 1 diabetes. *PLOS ONE*, *15*(5), e0233639. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0233639>
- Vandermies, M., & Fickers, P. (2019). Bioreactor-Scale Strategies for the Production of Recombinant Protein in the Yeast *Yarrowia lipolytica*. *Microorganisms* *2019*, Vol. 7, Page 40, *7*(2), 40. <https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS7020040>
- Veglia, F., & Gabrilovich, D. (2017). Dendritic cells in cancer: the role revisited. *Current Opinion in Immunology*, *45*, 43–51. <https://doi.org/10.1016/J.COI.2017.01.002>
- Verhelst, J., Hulpiau, P., & Saelens, X. (2013). Mx Proteins: Antiviral Gatekeepers That Restrain the Uninvited. *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR*, *77*(4), 551. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00024-13>
- Verhoef, J. J. F., & Anchordoquy, T. J. (2013). Questioning the Use of PEGylation for Drug Delivery. *Drug Delivery and Translational Research*, *3*(6), 499. <https://doi.org/10.1007/S13346-013-0176-5>
- Vestergaard, B. (2016). Establishment and use of surgical rat models for assessment of organ specific in vivo clearance - PubMed. *Danish Medical Journal*, *6*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27264946/>
- Vu, T. T. T., Jeong, B., Krupa, M., Kwon, U., Song, J.-A., Do, B. H., Nguyen, M. T., Seo, T., Nguyen, A. N., Joo, C. H., & Choe, H. (2016). Soluble Prokaryotic Expression and Purification of Human Interferon Alpha-2b Using a Maltose-Binding Protein Tag. *Microbial Physiology*, *26*(6), 359–368. <https://doi.org/10.1159/000446962>
- Wachholz, S., Eßlinger, M., Plümper, J., Manitz, M. P., Juckel, G., & Friebe, A. (2016). Microglia activation is associated with IFN- α induced depressive-like behavior. *Brain, Behavior, and Immunity*, *55*, 105–113. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2015.09.016>
- Walia, N. K. (2020). *Effect of culture conditions on recombinant protein production in Chlamydomonas reinhardtii*. <https://opus.lib.uts.edu.au/handle/10453/142377>
- Walsh, G. (2018). Biopharmaceutical benchmarks 2018. *Nature Biotechnology* *2018* *36*:12, *36*(12), 1136–1145. <https://doi.org/10.1038/nbt.4305>
- Wang, C.-J., Xiao, C.-W., You, T.-G., Zheng, Y.-X., Gao, W., Zhou, Z.-Q., Chen, J., Xue, X.-B., Fan, J., & Zhang, H. (2012). Interferon- α enhances antitumor activities of oncolytic adenovirus-mediated IL-24 expression in hepatocellular carcinoma. *Molecular Cancer* *2012* *11*:1, *11*(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1476-4598-11-31>
- Weijing, W., Qing, X., Weijing, W., & Qing, X. (2017). Challenges and strategies of antiviral therapy for chronic hepatitis B-how to achieve the maximization of clinical cure? *Journal of Clinical Hepatology*, *2017*, Vol. *33*, Issue 8, Pages: 1415-1418, *33*(8), 1415–1418. <https://doi.org/10.3969/J.ISSN.1001-5256.2017.08.002>
- Willemse, P. H. B., De Vries, E. G. E., Mulder, N. H., Aalders, J. G., Bouma, J., & Sleijfer, D. T. H. (1990). Intraperitoneal human recombinant interferon alpha-2b in minimal residual ovarian cancer. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, *26*(3), 353–358. [https://doi.org/10.1016/0277-5379\(90\)90233-J](https://doi.org/10.1016/0277-5379(90)90233-J)
- Wills, R. J. (1990). Clinical Pharmacokinetics of Interferons. *Clinical Pharmacokinetics*, *19*(5), 390–399.

<https://doi.org/10.2165/00003088-199019050-00003>

- Wingfield, P. T. (2015). Overview of the Purification of Recombinant Proteins. *Current Protocols in Protein Science / Editorial Board, John E. Coligan ... [et Al.]*, 80, 6.1.1. <https://doi.org/10.1002/0471140864.PS0601S80>
- Wong, M.-T., & Chen, S. S.-L. (2014). Emerging roles of interferon-stimulated genes in the innate immune response to hepatitis C virus infection. *Cellular & Molecular Immunology* 2016 13:1, 13(1), 11–35. <https://doi.org/10.1038/cmi.2014.127>
- Xiao, S., Shiloach, J., & Betenbaugh, M. J. (2015). Engineering Cells to Improve Protein Expression. *Current Opinion in Structural Biology*, 0(1), 32. <https://doi.org/10.1016/J.SBI.2014.03.005>
- Xiao, S., White, J. F., Betenbaugh, M. J., Grisshammer, R., & Shiloach, J. (2013). Transient and Stable Expression of the Neurotensin Receptor NTS1: A Comparison of the Baculovirus-Insect Cell and the T-REX-293 Expression Systems. *PLoS ONE*, 8(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0063679>
- Xu, D., Smolin, N., Shaw, R. K., Battey, S. R., Tao, A., Huang, Y., Rahman, S. E., & Caylor, M. L. (2018). Molecular insights into the improved clinical performance of PEGylated interferon therapeutics: A molecular dynamics perspective. *RSC Advances*, 8(5), 2315–2322. <https://doi.org/10.1039/c7ra12480e>
- Yabin, T., Wang, G., Wang, Y., Chen, W., Zhang, L., Liu, Y., Jiang, C., Wang, S., Bu, Z., & Cai, X. (2016). Extracellular expression and antiviral activity of a bovine interferon-alpha through codon optimization in *Pichia pastoris*. *Microbiological Research*, 191, 12–18. <https://doi.org/10.1016/J.MICRES.2016.05.009>
- Yeom, S.-J., Kim, Y. J., Lee, J., Kwon, K. K., Han, G. H., Kim, H., Lee, D.-H., Kim, H.-S., & Lee, S.-G. (2016). Long-Term Stable and Tightly Controlled Expression of Recombinant Proteins in Antibiotics-Free Conditions. *PLoS ONE*, 11(12). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0166890>
- Yonezawa, A., Morita, R., Takaori-Kondo, A., Kadowaki, N., Kitawaki, T., Hori, T., & Uchiyama, T. (2003). Natural Alpha Interferon-Producing Cells Respond to Human Immunodeficiency Virus Type 1 with Alpha Interferon Production and Maturation into Dendritic Cells. *Journal of Virology*, 77(6), 3777. <https://doi.org/10.1128/JVI.77.6.3777-3784.2003>
- Yoo, Y.-K., Gavaler, J. S., Chen, K., Dindzans, V., Brouillette, D. E., Whiteside, T. L., & Van Thiel, D. H. (2018). Alpha-interferon. *Digestive Diseases and Sciences*, 34(11), 1758–1764. <https://doi.org/10.1007/bf01540055>
- Yoon, S. Y., & Won, J. H. (2021). The clinical role of interferon alpha in Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms. *Blood Research*, 56, 44–50. <https://doi.org/10.5045/BR.2021.2020334>
- Yu, X., Cai, B., Wang, M., Tan, P., Ding, X., Wu, J., Li, J., Li, Q., Liu, P., Xing, C., Wang, H. Y., Su, X. zhuan, & Wang, R. F. (2016). Cross-Regulation of Two Type I Interferon Signaling Pathways in Plasmacytoid Dendritic Cells Controls Anti-malaria Immunity and Host Mortality. *Immunity*, 45(5), 1093–1107. <https://doi.org/10.1016/J.IMMUNI.2016.10.001>
- Yuan, J., Ni, G., Wang, T., Mounsey, K., Cavezza, S., Pan, X., & Liu, X. (2018). Genital warts treatment: Beyond imiquimod. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1445947>, 14(7), 1815–1819. <https://doi.org/10.1080/21645515.2018.1445947>
- Zacchi, L. F., & Schulz, B. L. (2015). N-glycoprotein macroheterogeneity: biological implications and proteomic characterization. *Glycoconjugate Journal* 2015 33:3, 33(3), 359–376. <https://doi.org/10.1007/S10719-015-9641-3>
- Zadeh, A. R., Askari, M., Azadani, N. N., Ataei, A., Ghadimi, K., Tavooosi, N., & Falahatian, M. (2019). Mechanism and adverse effects of multiple sclerosis drugs: a review article. Part 1. *International Journal of Physiology, Pathophysiology and Pharmacology*, 11(4), 95. [/pmc/articles/PMC6737429/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36737429/)
- Zahiu, C. D. M., & Rimbasi, M. (2014). Neuropsychiatric Side-Effects of Interferon-Alpha Treatment: Pathophysiology and Therapeutic Options. *Mædica*, 9(2), 121. [/pmc/articles/PMC4296753/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24296753/)

- Zawada, J. F. (2011). Cell-Free Production of Pharmaceutical Proteins. In *Comprehensive Biotechnology, Second Edition* (Vol. 3, pp. 391–397). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-088504-9.00537-7>
- Zemella, A., Thoring, L., Hoffmeister, C., & Kubick, S. (2015). Cell-Free Protein Synthesis: Pros and Cons of Prokaryotic and Eukaryotic Systems. *ChemBioChem*, *16*(17), 2420–2431. <https://doi.org/10.1002/cbic.201500340>
- Zhang, K. (2017). Overview of Interferon: Characteristics, signaling and anti-cancer effect. *Archives of Biotechnology and Biomedicine*, *1*(1), 001–016. <https://doi.org/10.29328/journal.hjb.1001001>
- Zhao, J., Yu, H.-Y., ZHANG, J.-L., WANG, X.-M., LI, J.-P., HU, T., HU, Y., WANG, M.-L., SHEN, Y.-Z., XU, J.-D., HAN, G.-X., & CHEN, J. (2017). Pharmacokinetic studies of the recombinant chicken interferon- α in broilerchickens. *The Journal of Veterinary Medical Science*, *79*(2), 314. <https://doi.org/10.1292/JVMS.15-0681>
- Zhou, J., Wang, Y., Chang, Q., Ma, P., Hu, Y., & Cao, X. (2018). Type III Interferons in Viral Infection and Antiviral Immunity. *Cellular Physiology and Biochemistry*, *51*(1), 173–185. <https://doi.org/10.1159/000495172>
- Zoon, K. C., Buckler, C. E., Bridgen, P. J., & Gurari-Rotman, D. (1978). Production of human lymphoblastoid interferon by Namalva cells. *Journal of Clinical Microbiology*, *7*(1), 44–51. <https://doi.org/10.1128/JCM.7.1.44-51.1978>