



Engystol[®] reduce la aparición de la inflamación respiratoria inducida por el virus sincitial respiratorio experimental en ratones con modulación de la capacidad fagocítica de macrófagos

Revisión de estudio

Engystol® reduce la aparición de la inflamación respiratoria inducida por el virus sincitial respiratorio experimental en ratones con modulación de la capacidad fagocítica de macrófagos

Dra. Sabine Wronski

Departamento de Preclínica en Farmacología e Inmunología,
miembro del Instituto Fraunhofer para Toxicología y Medicina Experimental,
Hannover, Alemania.

El resfriado común es una de las principales causas de consulta a un médico. A pesar de su curso de enfermedad generalmente leve, el resfriado sigue siendo una carga masiva en términos de calidad de vida e impacto socioeconómico debido a su alta prevalencia¹. Los síntomas pueden ser mucho más graves e incluso potencialmente mortales en poblaciones vulnerables como los niños o ancianos, así como los pacientes que padecen enfermedades pulmonares complejas, como EPOC o pacientes inmunocomprometidos (tratamiento inmunosupresor después de los trasplantes).

Las principales causas del resfriado común son los virus respiratorios, como el rinovirus o el virus sincitial respiratorio (VSR)². Si bien es bastante inocuo el patógeno que causa el resfriado en adultos, el VSR puede causar afecciones graves y potencialmente mortales, como neumonía y bronquiolitis en lactantes con una alta tasa de mortalidad³. Tanto el rinovirus como el VSR se usan en modelos *in vitro* e *in vivo* de infección respiratoria para la investigación preclínica y en la investigación adicional de los complejos mecanismos inflamatorios de la interacción patógeno-huésped.

Al ingresar al sistema respiratorio, las células epiteliales de las vías respiratorias (CER) y los macrófagos alveolares (MA) representan el primer sitio de encuentro del huésped con el patógeno invasor. Los MA son las células inmunitarias predominantes en las vías respiratorias y son importantes para regular la homeostasis de las vías respiratorias⁴. En el huésped normal, y en ausencia de infección, el

MA actúa como fagocito de primera línea, responsables de la eliminación de cualquier materia o partícula inhalada. Es importante destacar que tanto los MA y las CER están equipados con una variedad de receptores (receptores de reconocimiento de patrones [RRP], que son guardianes de las vías respiratorias)⁵. El reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) por los RRP, así como la activación a través de mediadores de citoquinas liberados de células epiteliales infectadas, conduce a la secreción de quimioquinas (CCL5, CCL2, CXCL10 y CXCL8) y citoquinas que alertan al huésped para inducir una respuesta inmune apropiada. Estas quimioquinas reclutan y activan células inflamatorias, especialmente monocitos/macrófagos, células T, células NK y neutrófilos. A pesar de que las células epiteliales son el objetivo principal de la infección, el MA desempeña el papel principal en la inducción de la respuesta inmune protectora del huésped⁶. El MA presenta efectos antivirales de manera directa o activando los factores de respuesta del interferón, que conducen a la inhibición de la replicación viral y mejora el aclaramiento viral. Además, los MA son importantes productores de citoquinas proinflamatorias tales como TNF-alfa, IL-6 e IL-8⁷, así como la citoquina antiinflamatoria IL-10 después de la infección con virus respiratorios, tal como el VSR.

En la actualidad, solo existen en el mercado limitadas opciones terapéuticas para el VSR. Se ha demostrado que el único medicamento curativo con licencia, la ribavirina, un agente viroestático, tiene eficacia y seguridad limitada y solo se sugiere para bebés de alto riesgo o pacientes inmunocomprometidos⁸.

Una nueva estrategia de tratamiento es el uso de compuestos inmunomoduladores dirigidos a las células del huésped en lugar de actuar directamente contra el virus⁹. Dado que los MA son reguladores claves de la respuesta inmune de las vías respiratorias, su red reguladora representa un objetivo terapéutico prometedor.

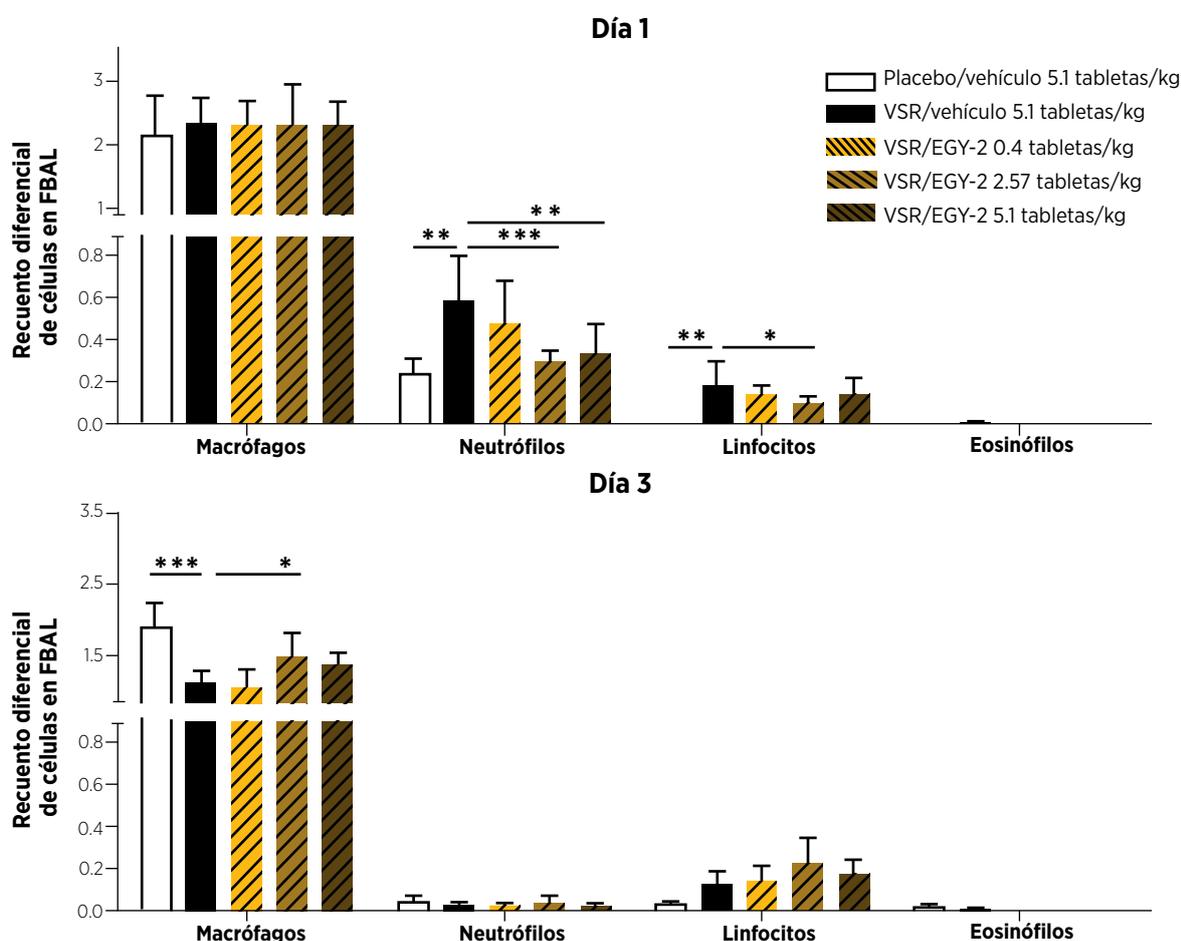
Engystol® (EGY-2) es un medicamento homeopático multiobjetivo, multicomponente en dosis bajas, que se usa con frecuencia para el tratamiento profiláctico y agudo de infecciones virales (por ejemplo, resfriado común). El efecto terapéutico de Engystol® se ha descrito en varios estudios *in vivo* e *in vitro*. Un estudio observacional que utilizó Engystol® para el tratamiento de infecciones respiratorias superiores asociadas con resfriado común, demostró no ser inferior frente al tratamiento convencional de venta libre¹⁰. Un ensayo doble ciego evidenció que Engystol® tuvo una recuperación más rápida de la enfermedad en comparación con el grupo placebo¹¹ y en otro, que posee actividad antiviral contra un amplio espectro de virus que en ciertos casos puede ser ejercida por una mayor

liberación de IFN de tipo I¹². Sin embargo, el modo de acción exacto de Engystol® todavía está bajo investigación.

Dentro de los resultados, en el modelo de resfriado común leve inducido por virus utilizado para el estudio, la infección por VSR provocó una respuesta inmune inflamatoria con infiltración temprana de granulocitos predominantemente neutrófilos, como lo indica el aumento significativo del número de neutrófilos en el fluido de lavado bronquioalveolar (FBAL) el día 1. Por otro lado, los linfocitos en FBAL fueron significativamente mayores en los días 1 y 3 en comparación con los animales no infectados. Los recuentos de linfocitos en el día 1 también se redujeron con el tratamiento con EGY-2, con una reducción significativa observada en el grupo de dosis media. Curiosamente, esto se asoció con una tendencia hacia un mayor número de linfocitos en este grupo de dosis el día 3, que sin embargo no alcanzó significancia estadística. En el día 3, el número absoluto de macrófagos se redujo en los animales infectados por VSR y se invirtió significativamente en el grupo de dosis media EGY-2 (**ver Cuadro 1**).

Engystol® (EGY-2) reduce la infiltración de células inflamatorias inducidas por virus en el FBAL

1
Cuadro



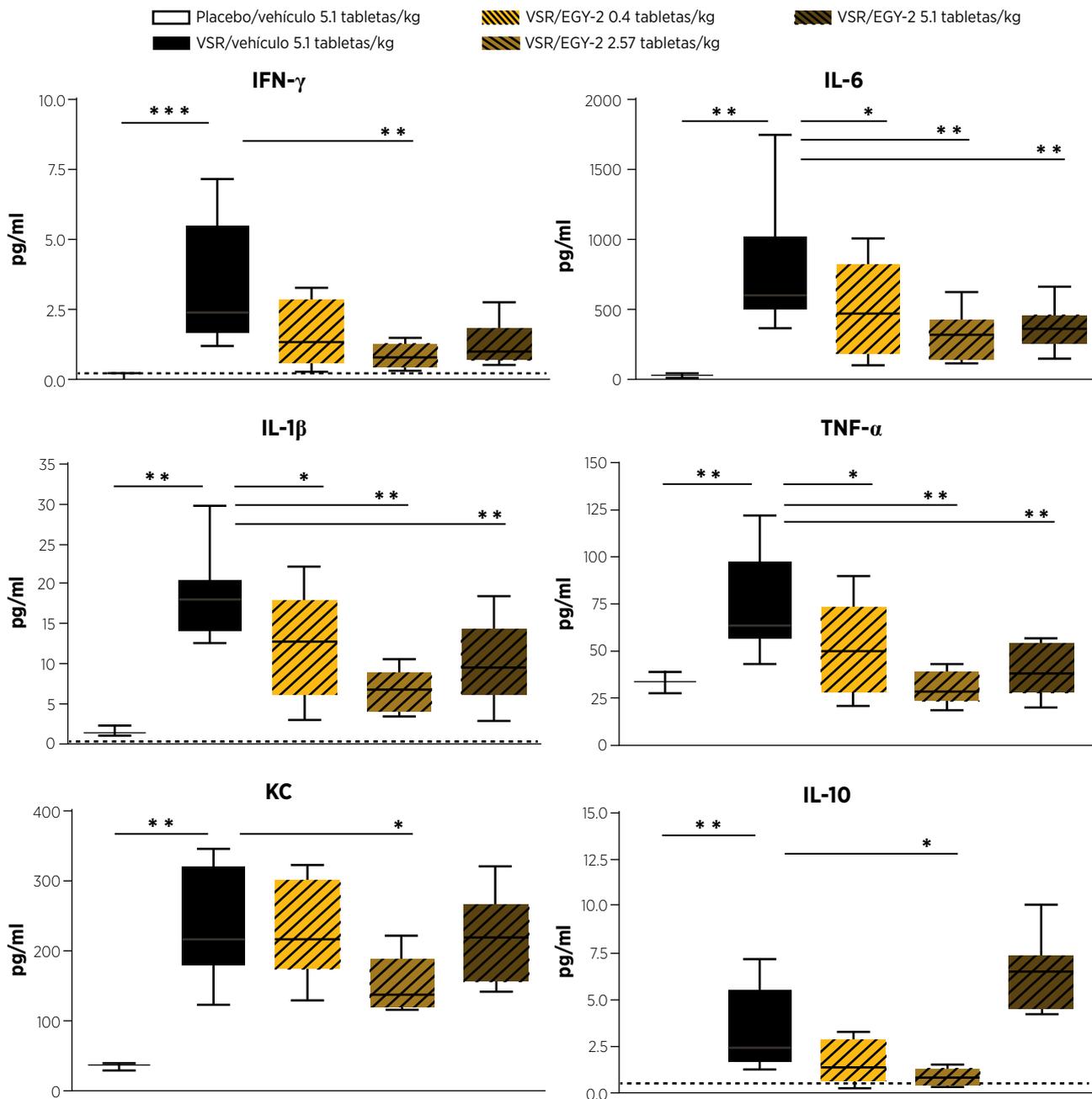
FBAL reduce el número absoluto por día 1 y 3 con media + SD para n=10 animales por grupo (3 para control negativo). **, ***, indica ser significativo con $p < 0.05$, 0.01 y 0.001, respectivamente (ANOVA y prueba posterior Bonferroni).

Engystol® redujo las citoquinas inducidas por la infección. La infección por VSR indujo la secreción de citoquinas pro-inflamatorias IFN- γ , IL-6, IL-1 β , TNF- α , IL-8, así como también de IL-10 anti-inflamatoria, medidas en FBAL el día 1 (**ver Cuadro 2**). En el día 1 EGY-2 redujo eficazmente esta liberación inducida por VSR de citoquinas pro-inflamatorias, ya que los niveles de IL-6, IL-1 β y TNF- α en el FBAL se

redujeron significativamente en la dosis más baja de 0.4 tab/kg e incluso fueron más pronunciadas en los grupos de dosis medias y altas frente al grupo control. El IFN- γ se redujo significativamente en el grupo de dosis media, y también una tendencia de reducción de niveles en los grupos de dosis baja y alta. Para la citoquina anti-inflamatoria IL-10, se observaron niveles ligeramente reducidos en el grupo de

EGY-2 reduce la secreción de citoquinas inducidas por virus

2
Cuadro



EGY-2 reduce la secreción de citoquinas inducidas por virus. Los niveles de citoquinas [pg/ml] en el sobrenadante de FBAL se muestran para n=10 animales por grupo (3 para el control negativo). Las gráficas muestran la mediana y el rango intercuartil (caja) y los valores mínimo máximo (bigotes).

*, **, *** indica significancia con $p < 0.05$, 0.01, 0.001, de acuerdo con las pruebas múltiples que utilizan Kruskal Wallis y la prueba posterior de Dunn (IFN- γ , IL-10) o ANOVA de una vía y la prueba posterior de Dunnett (IL-1 β , IL-6, KC, TNF- α) como no normales o datos normalmente distribuidos, respectivamente. Los límites de detección inferiores se indican como una línea de puntos.

KC: quimioattractor de neutrófilos, es el equivalente en los ratones de la IL-8 humana.

dosis baja y niveles significativamente reducidos en dosis media. Sin embargo, en el grupo de dosis alta esto no se mantuvo e incluso se observó una tendencia hacia niveles más altos en comparación con el grupo de control.

Efectos de Engystol® en la carga viral

La tinción con inmunofluorescencia de células de FBAL con anticuerpo anti-VSR-FITC, mostró que aproximadamente el 50% de las células FBAL de los animales infectados eran positivas para VSR en el día 1, confirmando así la presencia de virus y fagocitosis por macrófagos *in vivo*. Engystol® (EGY-2) en la dosis más alta (5.1 tab/kg) indujo una reducción leve pero estadísticamente significativa de células FBAL positivas a VSR. En el día 3, solo una pequeña proporción (<2%) de células FBAL positivas a VSR se detectó en todos los animales infectados sin diferencias entre los grupos.

Engystol® aumentó el número y la actividad fagocítica de los macrófagos alveolares. En los animales infectados por VSR tratados con EGY-2, los MA en el grupo de dosis alta mostraron una función fagocítica aumentada en la fase temprana de la infección, ya que tanto la cantidad de MA, así como su actividad fagocítica se incrementaron significativamente en comparación a los animales no tratados

en el día 1. En el día 3 el porcentaje de MA disminuyó a los niveles basales, debido potencialmente a la activación previa de la infección por VSR. Sin embargo, el aumento de la actividad fagocítica en el grupo de dosis alta se mantuvo también el día 3. En el grupo control con ratones no infectados, EGY-2 no mostró tener efecto estimulante sobre la fagocitosis de macrófagos.

El EGY-2 aumentó el número y la actividad de los macrófagos alveolares fagocíticos. En animales infectados con RSV tratados con EGY-2, los macrófagos alveolares (MA) en el grupo de dosis alta mostraron una función fagocítica notablemente mejorada en la fase temprana de la infección, ya que tanto el número de MA fagocítica como su actividad fagocítica aumentaron significativamente, en comparación a animales no tratados el día 1 (**ver Cuadros 3 y 4**). En el día 3, el porcentaje de MA fagocítica disminuyó a niveles basales (**ver Cuadro 5**) potencialmente debido a la activación previa tras la infección por RSV. Sin embargo, el aumento de la actividad fagocítica en el grupo de dosis alta EGY-2 se mantuvo también el día 3 (**ver Cuadro 6**). En el experimento de control con ratones no infectados, EGY-2 no mostró este efecto estimulante sobre la fagocitosis de macrófagos.

Discusión:

La respuesta inmune inflamatoria amortiguada hacia la infección del virus respiratorio en los animales tratados con EGY-2 se relacionaron con una mayor capacidad fagocítica de los macrófagos alveolares. La fagocitosis por MA como defensa de primera línea es el paso inicial para inducir el sistema inmune innato. En general, durante la infección con VSR, el número de MA fagocíticamente activos disminuye hacia puntos de tiempo posteriores, lo que posiblemente refleje algún tipo de agotamiento de la respuesta de los macrófagos. Además, se ha descrito que el VSR interfiere con la fagocitosis de los macrófagos. El tratamiento con EGY-2 está disponible para aumentar la actividad fagocítica de los MA incluso en el día 3, lo que indica que EGY-2 es capaz de soportar la función defensiva de MA incluso en la fase de agotamiento.

Curiosamente, observamos que EGY-2 mostró el mismo efecto estimulante sobre la fagocitosis de AM en ratones infectados con un inóculo de RSV que exhibe una infecciosidad más baja, por lo que no induce una respuesta infla-

matoria impulsada por neutrófilos, pero aún muestra una replicación viral productiva in vivo. Incluso bajo esta condición de presencia de virus sin respuesta inmune activa, el porcentaje y la actividad de los macrófagos fagocíticos fue significativamente mejorado por EGY-2 y persistió hasta el día 3, lo que indica que EGY-2 es compatible con la fagocitosis AM también en un entorno no inflamatorio. Esto podría interpretarse en línea con el orden de compromiso durante las respuestas inmunes: para restringir la inmunología (y un mayor daño colateral) como resultado de una respuesta inmune excesiva. En este caso, esto significaría que los neutrófilos se reclutan solo si los macrófagos residentes en los tejidos por sí solos no pueden restringir la infección. Por lo tanto, los efectos beneficiosos de EGY-2 sobre la respuesta inmunitaria inducida por el VRS podrían lograrse mediante el apoyo a las funciones de macrófagos que inducen una respuesta inmune mejorada y limitan el reclutamiento de neutrófilos, lo que posteriormente puede conducir a una resolución más temprana de la respuesta inflamatoria aguda.

En resumen, los datos indican una potente y beneficiosa función inmunomoduladora de Engystol® (EGY-2) durante condiciones inflamatorias en el pulmón (ej: durante el inicio temprano de la infección por virus respiratorio, como se muestra en el presente estudio in vivo). La preparación con múltiples componentes en dosis bajas le confiere a Engystol® la capacidad de modular la función de los macrófagos y su papel es decisivo en el inicio de una respuesta inmune para mantener aun más la homeostasis de las vías respiratorias. Engystol® (EGY-2) apoya la función de los macrófagos en la defensa antiviral innata, mejorando su actividad fagocítica mientras reduce la liberación de citoquinas inflamatorias inducidas por el VSR. Esto resulta en una reacción inflamatoria disminuida del huésped durante el inicio temprano de la infección. Los efectos beneficiosos de Engystol® (EGY-2), exhibidos durante el inicio de la enfermedad, podrían allanar el camino para limitar el progreso fisiopatológico y mejorar la resolución de la enfermedad, como se pudo ver en los estudios observacionales.

Engystol®

Eficaz para la **prevención** y **tratamiento** de infecciones virales^{1,2}



POR SU ORIGEN NATURAL

- Disminuye la actividad y la replicación viral.³
- Disminuye la recurrencia de infecciones virales.^{5,6}



En niños y adultos mayores puede suministrarse concomitantemente con otros medicamentos.^{6,7}



Seguro y bien tolerado en adultos, niños y lactantes por sus componentes de origen natural.^{4,6,7}

Referencias bibliográficas¹. Oberbaum H et al. Antiviral Activity of Engystol®: an in vitro analysis. J Altern Complement Med 2005;11(5):855-862. ². Roeska and Seilheimer Antiviral activity of Engystol® and Gripp-Heel®: an in-vitro assessment. Journal of Immune Based Therapies and Vaccines 2010, 8:6. ³. Oberbaum M, Glatthaar-Saalmüller B, Stolt P, Weiser M. Antiviral activity of Engystol: an in vitro analysis. J Altern Complement Med. 2005 Oct;11(5):855-62. Erratum in: J Altern Complement Med. 2005 Dec;11(6):1122. ⁴. Torbicka E et al. RSV infections in infants: therapy with a homeopathic preparation. Biomed Ther 1998; XVI(4):256-260. ⁵. Heilmann A. Engystol N en la profilaxis de la gripe. Medicina Biológica. 1993;2:162-166. ⁶. Herzberger G, Weiser M. Homeopathic Treatment of Infections of various Origins; A Prospective Study. Biomedical Therapy. 1997;15:123-127. ⁷. Índice bioterapéutico Vademécum para profesionales sanitarios. Briza publicaciones edición español 2013. Es un medicamento homeopático no exceder su consumo. Leer indicaciones y contraindicaciones en la etiqueta. Si los síntomas persisten consulte a su médico. Engystol Tabletas Registro INVIMA MH2016 - 0000378-R1. Indicaciones: prevención y tratamiento de los síntomas asociados al resfriado común y estados gripales. Fortalecimiento del sistema inmune contra afecciones virales.