Lat. Am. J. Pharm. **22** (3): 261-4 (2003)
Recibido el 11 de diciembre de 2002
Aceptado el 4 de abril de 2003

Estrés Oxidativo en la Infección por el Virus Linfo-Trópico de Células T Humanas de Tipo I

Lizette GIL *& Jorge PÉREZ

Atención Médica, Instituto "Pedro Kourí" (IPK), Autopista Novia del Mediodía, Km 6 1/2 PO Box 601 Marianao 13, Ciudad de La Habana, Cuba

RESUMEN. El virus linfo-trópico de células T humano de tipo I (HTLV-I) es un retrovirus asociado entre otras enfermedades a la leucemia de células T del adulto y la paraparesia espástica tropical. La patología es aparentemente el resultado de la actividad de la proteína viral Tax que participa en el incremento de la producción de especies reactivas de oxígeno requeridas para la activación de NF-κB, y que trans-activa la expresión de genes virales y celulares que resulta en la transformación celular, la inmortalización y la enfermedad. La caracterización de dichos mecanismos contribuye a una mejor comprensión de la fisiopatología de la infección y en la perspectiva de intervención terapéutica preventiva.

SUMMARY. "Oxidative Stress in Infection by Human T-lymphotropic Virus Type I". The human T-lymphotropic virus type I is a retrovirus associated to adult T cell leukemia, the neurological disorder tropical spastic paraparesis and other related diseases. Pathology apparently results from the activities of the Tax viral protein, which increase the generation of oxidative stress species required for NF-κB activation, and trans-activates the expression of viral and cellular genes. This results in cell transformation, immortalization and disease. The characterization of these mechanisms might contribute both to better understand infection physiology and to the perspective of preventive therapeutic intervention.

INTRODUCCION

El HTLV-I se reconoce como el agente etiológico de la leucemia-linfoma de células T del adulto (LTA) y la paraparesia espástica tropical o mielopatía asociada al HTLV-I (PET/MAV). LTA fue reconocido como una nueva enfermedad en 1977, reportado por Junji Yodoi en 1974 como el primer cáncer humano causado por un virus. A juzgar por observaciones recientes, el espectro de enfermedades posiblemente asociadas con este virus parece ser más amplio y pudiera incluir otras afecciones que hasta el presente se han considerado de causas autoinmunes o desconocidas. La infección por HTLV-I es endémica en el suroeste de Japón, centro y sur de Africa, América Central, suroeste de EE.UU. y en el área del Caribe; aunque se reportan casos en otras áreas geográficas. Se estiman entre 10 y 20 millones de personas portadoras en el mundo [1,2].

Teniendo en cuenta que la infección por HTLV-I es endémica en el área del Caribe, en Cuba se han realizado varios estudios de vigilancia seroepidemiológica. Desde 1978 hasta 1991 se estudiaron 3031 personas y dos resultaron seropositivas, lo que se correspondió con un índice de seropositividad de 0,065%. Ello motivó a estandarizar un ELISA para la detección de anticuerpos HTLV-I/II y de un Western Blot para la confirmación. Hasta el 31 de diciembre de 2001 se habían estudiados 49 423 personas y 15 de ellas se diagnosticaron como seropositivas al HTLV-I, para un índice general de seropositividad de 0,044%, que representa un bajo índice con respecto al área [3,4].

El HTLV-I es un retrovirus de reconocido carácter inmuno-proliferativo pero los mecanismos por los cuales la infección desarrolla cualquiera de estas patologías no están del todo esclarecidos y las mismas se han mantenido resistentes a

PALABRAS CLAVE: Estrés oxidativo, HTLV-I, NF-κB, Tioredoxina,
KEYWORDS: HTLV-I, Oxidative stress, NF-κB, Thioredoxin.

* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: lgil@ipk.sld.cu

la mayoría de las terapias convencionales.

Numerosas evidencias experimentales señalan que el estado de oxidación/reducción celular es esencial en el desarrollo de los organismos vivos, en la fisiología normal, la activación e inactivación de biomoléculas, la transducción de señales, la obtención de energía metabólica y el recambio y la activación celular así como en la defensa antimicrobiana y antitumoral. Algunas proteínas (tioredoxina (TRX), superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa y bcl-2) relacionadas con el estado redox intervienen en los procesos de muerte y proliferación celular. El estrés oxidativo (EO), desequilibrio redox caracterizado por un exceso en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO), aparejado o no a un debilitamiento de los sistemas antioxidantes ha sido asociado a la inducción de apoptosis en numerosas infecciones virales, entre ellas la infección por VIH-I y la infección por HTLV-I [5-8].

En la infección por HTLV-I se ha demostrado la desregulación del receptor de IL-2 (IL-2R α / CD25), lo que llevó a la identificación de la TRX como un inductor del CD25 producido por las células LTA y al reconocimiento del papel de la regulación redox en la fisiopatología de la infección [9]. Este artículo es una revisión de los progresos recientes en el campo del EO y la fisiopatología de la infección por HTLV-I.

HTLV-I, IL-2Rα Y TRX

El HTLV-I, descubierto en 1980 por Poiesz *et al.* [10] en EE.UU. en pacientes diagnosticados con ATL, se ha relacionado con un aumento en la expresión del receptor de IL-2 (IL-2Rα/CD25). El mARN de IL-2Rα/CD25 está aumentado constitutivamente en las células de pacientes ATL y puede ser liberado de manera soluble. Esta evidencia sugiere el papel probable de la IL-2 en la fisiopatología de la infección pero algunas células infectadas no requieren de la IL-2 para su crecimiento *in vitro*. La mayoría de las líneas celulares LTA no proliferan en respuesta a la IL-2. Por esto se considera la sobre-expresión de IL-2Rα como un indicador del estado de actividad de las células infectadas pero el mecanismo fisiopatológico involucrado queda por esclarecer [11,12].

La TRX reconocida inicialmente como factor derivado de células LTA (ADF) fue definida como un factor inductor del IL-2Rα producido por las células infectadas. Esta proteína está presente en muchas especies, desde plantas hasta mamíferos, es pequeña (12kDa) y tiene un grupo redox activo ditiol/disulfuro en el sitio activo conservado: Cys-Gly-Pro-Cys. La expresión de la misma es inducida por varios tipos de estrés: infección viral, mitógenos, rayos X, rayos UV, peróxido de hidrógeno y reperfusión postisquémica. El gen que codifica para la TRX humana fue reportado recientemente en el cromosoma 9. El promotor del gen contiene elementos que responden a la acción de citocinas y elementos que responden a EO. Numerosos resultados de investigaciones realizadas en diferentes enfermedades apuntan a la asociación de la disminución de la TRX con disfunciones del sistema inmune [13,14].

El estado redox intracelular es esencial para la viabilidad celular, la activación y la proliferación. La TRX, conjuntamente con NADPH y TRX-reductasa, opera como un sistema proteico de reducción de disulfuros de vital importancia en el mantenimiento del estado redox celular. Su función es tanto intracelular como extracelular. Aunque el glutatión (GSH) es el antioxidante intracelular de mayor cuantía, la TRX juega también un papel de antioxidante endógeno.

La TRX participa de la regulación de las interacciones proteína- nucleótidos. Una de las funciones más importante de la TRX es la activación de factores de transcripción, entre ellos NF-κB [15] y AP-1 [16] (Fig. 1). La unión de NF-κB al sitio κB es regulado por factores redox. Después de la disociación de I-κB, es necesaria la reducción de NF-κB para su unión al sitio activo. El residuo Cys-62 es el sitio blanco reducido por TRX para su interacción con el ADN [13].

La unión de AP-1 al elemento de respuesta TRE esta influenciado por condiciones de reducción como la presencia de TRX. En las células, el factor nuclear redox Ref-1 esta involucrado en la regulación del residuo cisteína de AP-1. Nuevos reportes evidencian la interacción directa de TRX y Ref-1: estos estudios reportan la existencia de una cascada redox involucrada entre la activación de TRX y la liberación de AP-1 [16] (Fig. 1). La unión de otros factores de transcripción, incluyendo c-Myb y p53, a sus elementos cis está modulada por el estado redox.

En los límites de la membrana celular la TRX también juega un papel citoprotector frente al estrés oxidativo y la transducción de señales. La TRX promueve el consumo de cisteína en las células y regula los niveles intracelulares de GSH. Como los residuos cisteínas son importantes para la síntesis del GSH el efecto citoprotector es en parte dependiente de los niveles intracelulares del mismo. La TRX conjuntamente con

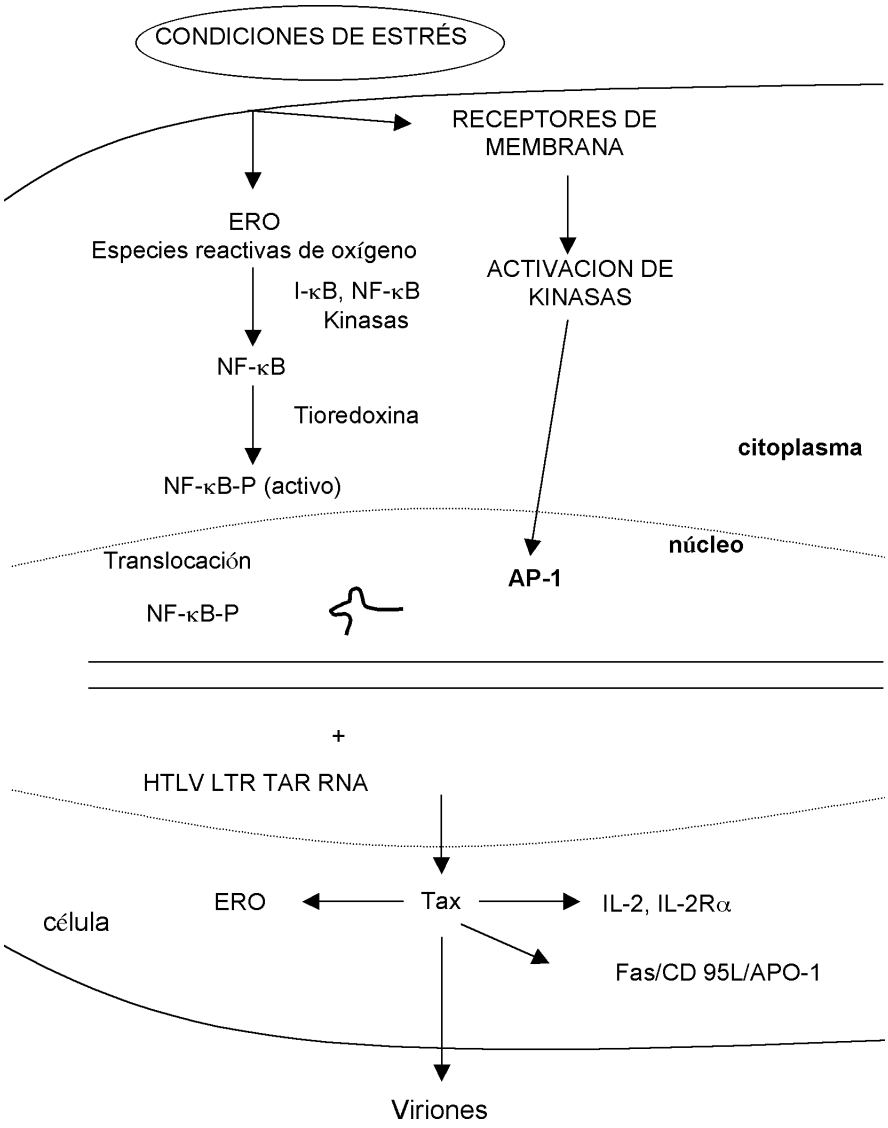

Figura 1. Diversas biomoléculas de los sistemas oxidante y antioxidante están involucradas en la regulación de la transcripción del HTLV-I mediada por la activación de Tax, NF-κB, AP-1. La generación del estrés oxidativo producto de estímulos externos contribuyen al aumento de la replicación viral, al daño de las biomoléculas estructurales y a la activación de las señales celulares de apoptosis (CD 95L), todo lo que influye en el desarrollo de estados patológicos relacionados con la progresión de la infección al estado ATL, HEM.

la glutaredoxina constituyen donadores de electrones a la glutatión-peroxidasa que ejerce una importante función antioxidante en el plasma.

La TRX es secretada o liberada por los linfocitos y otros tipos de células como hepatocitos y fibroblastos y su aumento es indicativo de respuesta inflamatoria frente al estado de EO [13, 14].

ESTRÉS OXIDATIVO E INFECCIÓN POR HTLV-I

El HTLV-I a partir del gen *tax* codifica para una proteína de 40 Kd localizada primariamente en el núcleo de las células infectadas, en la región conocida como matriz nuclear. La proteína Tax es un trans-activador de la transcripción del promotor en el LTR 5' del genoma del provirus. Ahora se conoce que la proteína Tax es muy promiscua y capaz de trans-activar promotores heterológos, además de su propio LTR. El mecanismo de acción de dicha proteína es indirecto sobre otros promotores y existen reportes de la inducción *in vitro* de la transformación maligna a través de la represión de genes básicos reguladores celulares mediada por proteínas bHLH en presencia de Tax [16-18] (Fig.1).

Evidencias clínicas de la existencia de EO en pacientes asintomáticos y enfermos de LTA, y de PET evidencian su persistencia desde el estado inicial de la infección, y relacionan la misma con el proceso de apoptosis de linfocitos T, hospederos preferenciales del virus [19,20].

Investigaciones recientes demuestran la activación hormonal de Tax. Se ha demostrado que Tax estimula un estado pro-oxidante *in vitro* en células Jurkat infectadas. Este fue medido como cambios en los niveles intracelulares de GSH y peróxido de hidrógeno libre, los cuales fueron determinados y relacionados con la muerte celular por apoptosis. El EO generado en células Jurkat T transfectadas establemente con HTLV-I

esta involucrado en la activación de NF-κB, trans activador celular nuclear que es blanco de las ERO y es fundamental en la expresión de genes como: el receptor de IL-2 (CD-25) y el marcador de apoptosis (Fas/CD95/APO-1). De lo que se puede sugerir que una de las funciones de Tax es estimular la producción de ERO que son necesarias para la activación de NF-κB [21-24] (Fig. 1).

Este hecho ha sido corroborado con la adición micromolar del antioxidante ditiocarbamato pirrolidina a células Jurkat T donde se suprimió la activación de NF-κB y fue afectada también la transactivación del virus por Tax [25].

La activación sostenida de la replicación viral por cambios hormonales resulta en una selección de clones infectados que pierden la actividad Tax, conllevando a la proliferación celular y a la inhibición del proceso de apoptosis. Lo que pudiera corresponder con la fisiopatología de la enfermedad de LTA [25].

Experimentos *in vitro* reportan que una elevada concentración de 7,8 -dihidroneopterina amplifica la actividad de Tax, pudiendo influir en una estimulación de la apoptosis y en la alteración del estado redox [26].

CONCLUSIONES

Esta serie de experimentos apuntan actualmente al análisis de la relación entre el estado redox y las funciones y el desarrollo celular. Las evidencias sugieren que el estado redox conjuntamente con la estimulación antigénica y de citocinas contribuyen a una vía de señalización intracelular y en algunos casos las ERO constituyen moléculas señalizadoras. El estado de equilibrio entre oxidantes y antioxidantes en el ciclo de vida de células infectadas con HTLV-I puede modular el daño a las diferentes biomoléculas estructurales y el proceso de apoptosis que ocurre en las mismas, señalando que el estado redox pudiera estar relacionado con la patogénesis de enfermedades como la LTA y PET. Lo anterior constituye un potencial terapéutico en los desórdenes asociados a infecciones por HTLV-I.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Yodoi, J., K. Takatsuki, & T. Masuda (1974) *N. Engl. J. Med*. **290**: 572-3.
2. Uchiyama, T., J. Yodoi, K. Sagawa, K. Takatsuki & H. Uchino (1977) *Blood* **50**: 481-92.
3. Rolo, F., M.B. de Armas, J. Mato, A.L. Lubian & H .Díaz (1997) *Rev.Cubana Med. Trop*. **47**: 204-8.
4. Lubian, A.L., H.M. Díaz, E. Silva, M.T. Pérez, O. Cruz, J.L. de la Fuente, L. Navea & E. Noa (1998) *Rev. Cubana Med*. **37**: 199-204.
5. Eisenlohr, L.C., J.W. Yewdell & J.R. Bennink (1992) *J. Exp. Med*. **175**: 481-7.
6. Nakamura, H., K. Nakamura & J. Yodoi (1997) *Annual Rev. Immunol*. **15**: 351-69.
7. Schwarz, K.B. (1996) *Free Radic. Biol. Med*. **21**: 64411-9.
8. Buttke , T.M. & PA Sandstrom (1994) *Immunol .Today* **15**: 7-10.
9. Crenon, I., C. Beraud, P. Simard, J. Montagne, P. Veschambre & P. Jalinot (1993) *Oncogene* **8**: 867-75.
10. Poiesz B.J., F.W. Ruscetti, A.F. Gazdar, P.A. Bunn, J.D. Minna & R.C. Gallo (1980) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **77**: 7415-9.
11. Yodoi, J. & T. Uchiyama (1992) *Immunol. Today* **13**: 405-10.
12. Hayashi, T., Y. Ueno & T. Okamoto (1993) *J. Biol. Chem*. **268**: 11380-88.
13. Okamoto, T., S. Sakurada, J. Yang & J. Merin (1997) *Current Top. Cell. Reg.* **35**: 149-61.
14. Hirota, K., M. Matsui, S. Iwata, A. Nishiyama, K. Mori & J. Yodoi (1997) P*roc. Natl. Acad. Sci. USA* **94**: 3633-6
15. Okamoto, T., H. Ogiwara, T. Hayashi, A. Mitsui, T. Kawabe & J. Yodoi (1992) *Int. Immunol*. **4**: 811-9.
16. Mattews, M.A., R.B. Markowits & W.S. Dynan. (1992) *Mol. Cell Biol*. **12**: 1986-96.
17. Yoshida, M. (1993) *Trends Microbiol.* **1**: 131-5.
18. Uittenbogaard, M.N., A.P. Armstrong, A. Chiaramello & J.K. Nyborg (1994) *J. Biol. Chem*. **269**: 22466-9.
19. Furuke, K., T. Sasada, Y. Euda-Taniguchi, A. Yamauchi, T. Inamoto, Y. Yamaoka, H. Masutani & J. Yodoi (1997) *Cancer Res.* **57**: 4916-23.
20. Los, M., K. Khazaie, K. Schulze-Osthoff, P.A. Baeuerle, V. Schirrmarcher & K. Chlichlia. (1998) *J. Immunol.* **161**: 3050-5.
21. Cono, T., Y. Yamada, T. Hata, H. Mori, M. Yamamura & M. Tomonoga (1996) *J. Immunol.* **56**: 4722-8.
22. Abate, C., L. Patel, F.J. III Rauscher & T. Curan (1990) *Science* **249**: 1157-61.
23. Curtis, V.E., R. Smilde & K.L. McGuire (1996) *Mol. Cell Biol.* **16**: 3567-75.
24. Li, X. H. & R.B. Gaynor (1999) *Gene Exp.* **7**: 223-45.
25. Schreck, R., R. Grassmann, B. Fleckenstein & P.A. Baeuerle (1992) *J. Virol.* **66**: 6288-93.
26. Baier-Bitterlich, G., G. Baier, D. Fuchs, G. Bock, A. Hausen, G. Utermann, M. Pavelka & H. Wachter (1996) *Oncogene* **13**: 2281-5.