

## Radicales libres de oxígeno e infección por HIV

### ¿Pueden ser útiles los antioxidantes?

El hombre, como criatura aeróbica, ha desarrollado mecanismos fisiológicos sumamente complejos para aprovechar el oxígeno del medio ambiente, quedando expuesto a la agresión que produce el mismo sobre estructuras celulares a través de lo que se denomina daño oxidativo.

Existe un balance fisiológico entre los factores de oxidación celular que ejercen su efecto lesivo por medio de la generación de radicales libres de oxígeno y las defensas antioxidantes que actúan como tales al aceptar fácilmente electrones de sustratos oxidados. Si la producción de radicales libres supera a la de sustancias antioxidantes puede producirse lesión celular.

La generación de especies reactivas de oxígeno (radical superóxido, radical hidroxilo, peróxido de hidrógeno, entre otras), parece ser la vía final común por la que diversas noxas (radiaciones ionizantes, alcohol, nicotina, fármacos y carcinógenos químicos) pueden provocar daño a las distintas estructuras de la célula.

Los radicales libres son compuestos altamente reactivos e inestables, debido a la presencia de un electrón célibe en el orbital externo. Este electrón no apareado se transmite a otros sistemas biológicos y así puede producirse un doble efecto. Por un lado se destruye, por ejemplo, la noxa responsable de un proceso inflamatorio pero por otro puede también agredirse a estructuras celulares nobles (ácidos nucleicos, proteínas y aminoácidos, lípidos y lipoproteínas, carbohidratos y componentes del tejido conectivo), causando diferentes grados de daño celular en la función de la membrana, el metabolismo, o la expresión genética.

Estos compuestos reaccionan con moléculas clave de las membranas plasmáticas, especialmente aminoácidos, con los ácidos nucleicos, con grupos sulfhidrilos y con ácidos grasos no saturados. Tienen la propiedad de generar reacciones autocatalíticas, en las que las moléculas con las que se relacionan, se convierten también en radicales libres. Así se propaga una reacción en cadena y el número de especies reactivas de oxígeno permanece constante.

Actualmente se relaciona a los radicales libres con la génesis de diversos procesos degenerativos, inflamatorios, neoplásicos e infecciosos (sepsis). Existen numerosas evidencias que señalan la participación de los radicales libres y las señales mediadas por oxidación, en la patogenia de la aterosclerosis y el cáncer. Más recientemente se ha reconocido el papel que éstos juegan en relación con la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (HIV).

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), causado por la infección por HIV, destruye específicamente los linfocitos CD4 posibilitando la infección por agentes oportunistas y el desarrollo de determinadas neoplasias. El estado inmunológico de los pacientes infectados por el HIV está signado por el deterioro progresivo, incluso en aquellos pacientes que siendo HIV positivos no han presentado aún evidencias clínicas de enfermedad<sup>1</sup>.

Se ha propuesto que la infección por HIV, al igual que la producida por otros virus produce stress oxidativo directamente relacionado con las lesiones tisulares. El supuesto de que los agentes antioxidantes pueden aumentar la respuesta inmune celular, está recibiendo actualmente mayor atención y ha sido motivo de numerosos ensayos clínicos. Existe en los pacientes HIV positivos un estado pro-oxidante como resultado de la sobreproducción de especies reactivas de oxígeno, combinado con una deficiencia nutricional y metabólica de sustancias antioxidantes lo que puede llevar a una mayor replicación viral<sup>2</sup>.

El principal agente antiviral actualmente aprobado para el tratamiento del SIDA, la Zidovudina (AZT), presenta una toxicidad tiempo y dosis dependiente significativa. Los radicales libres de oxígeno han sido implicados por trabajos recientes tanto con los mecanismos que median la toxicidad por AZT y otras drogas, como con la patogénesis de la enfermedad misma (estimulando la replicación viral)<sup>3</sup>.

El glutatión, a nivel extracelular, protege a las células de la injuria oxidativa y es el principal transportador del aminoácido cisteína; en el interior de las células funciona como un agente antioxidante directo e indirecto al intervenir en la síntesis proteica, en la formación de precursores de los ácidos nucleicos, y como cofactor de numerosas enzimas. Se cree que el glutatión es importante en el inicio y la progresión de la activación linfocitaria y que es esencial en las reacciones inmunes. Su depleción podría potenciar la replicación del virus de la inmunodeficiencia humana, especialmente en individuos que tienen concentraciones plasmáticas elevadas de citoquinas inflamatorias, ya que estas citoquinas estimulan la replicación del HIV más eficientemente en células depletadas de glutatión<sup>4</sup>.

Se ha descrito que la concentración intracelular de antioxidantes, principalmente glutatión en monocitos y linfocitos de sangre periférica de pacientes HIV positivos asintomáticos, es ligeramente menor que la de los controles sanos. Estos niveles son aún más bajos en pacientes con el complejo relacionado con SIDA y SIDA propiamente dicho<sup>5</sup>. Algunos autores han hallado que la concentración plasmática de este antioxidante en los pacientes infectados por el HIV es de sólo el treinta por ciento comparado con una población de testigos sanos de características similares. Se observó una mejoría estadísticamente no significativa en los niveles de glutatión en pacientes tratados con AZT<sup>6</sup>.

La evidencia de compromiso inmunológico oxidativo en la infección por HIV está determinada por el aumento de la concentración plasmática de malondialdehído, producto de la peroxidación lipídica<sup>7</sup>. La producción de peróxido de hidrógeno en los pacientes HIV positivos no se altera o se encuentra aumentada, y se considera que el daño linfocitario es consecuencia de un déficit en la remoción de este radical tóxico del oxígeno. Se ha observado también que el mercaptoetanol y la N-acetilcisteína, ambos compuestos tiólicos capaces de aumentar las reservas intracelulares de glutatión, estimulan *in vitro* la producción de células T en pacientes con SIDA<sup>8</sup>.

La apoptosis (muerte celular programada) es un mecanismo probable de pérdida de células inmunes en pacientes HIV positivos y con SIDA. Los fenómenos involucrados incluyen alteraciones en las vías metabólicas y en los sistemas de transporte de electrones, disminución de la producción intracelular de ATP, pérdida de la regulación intracelular de calcio, activación de endonucleasas y fragmentación del ADN. La expresión del antígeno Fas en la membrana de los linfocitos CD4 sería inducida por la infección por el virus HIV y al asociarse al receptor del factor de necrosis tumoral (TNF) alfa se correlacionaría con el desarrollo de apoptosis. El Fas linfocitario estaría aumentado en los pacientes HIV positivos y con SIDA, sugiriendo una vinculación entre este aumento y la apoptosis de linfocitos en cultivo<sup>9</sup>.

El stress oxidativo es un determinante importante de replicación del virus, mediante la activación de TNF kappa B y alfa, los cuales actúan en la región promotora del genoma viral y estarían regulados por el estado de óxido-reducción<sup>10</sup>.

Se ha ensayado el uso de antioxidantes como el ácido alfa lipoico y la N-acetilcisteína para bloquear la transcripción viral mediada por estos factores, y se ha demostrado que este modelo actúa especialmente en células previamente depletadas de glutatión<sup>11</sup>. Tanto la procisteína (prodroga de la cisteína que requiere conversión intracelular por 5-oxoprolinasa)<sup>12</sup> como la N-acetilcisteína y la cisteína se utilizan con el fin de aumentar la concentración intracelular de glutatión reducido e inhibir el TNF (especialmente kappa B). Se han identificado varios fármacos además de la N-acetilcisteína que son capaces de inhibir la acción de TNF alfa *in vitro*. Ellos son la pentoxifilina, los carbamatos, la talidomida, y el ketotifeno. Asimismo se ha observado que la ciclosporina y el FK 506 bloquean la liberación de TNF aunque no se conoce la especificidad ni el mecanismo de acción<sup>13</sup>.

De acuerdo a lo mencionado, la restauración de los niveles intracelulares de glutatión disminuiría la acción de los radicales libres, inhibiría la estimulación viral por citoquinas inflamatorias y bloquearía parcialmente la producción viral. El restablecimiento del nivel de agentes antioxidantes en estos pacientes contribuiría además a restaurar ciertas deficiencias funcionales de los linfocitos T y permitiría aliviar la caquexia y el estado de deterioro general que se encuentra en las etapas más avanzadas de la infección por HIV. En este sentido se han ensayado diversas drogas con propiedades antioxidantes. La penicilamina inhibe la producción de HIV *in vitro* e *in vivo* pero tiene importantes efectos adversos<sup>14</sup>. La pentoxifilina, un potente inhibidor del TNF alfa, ha sido utilizada en pacientes con cáncer con el fin de aliviar la caquexia<sup>12</sup>. Se ha observado que disminuye asimismo la replicación de HIV y ha sido propuesta para el tratamiento del SIDA<sup>15</sup>. La vitamina C también sería capaz de inhibir la replicación viral *in vitro* sinérgicamente con N-acetilcisteína pero no con glutatión<sup>16</sup>. La N-

acetilcisteína ha sido utilizada en el tratamiento del SIDA por sus efectos antirretrovirales in vitro, su escasa toxicidad, su tolerabilidad por vía oral y su bajo costo<sup>5</sup>.

Sin duda, el rol de los antioxidantes en relación con la infección por HIV requerirá nuevas investigaciones hasta poder establecer su exacta dimensión terapéutica, pero dado que el tratamiento de los procesos infecciosos oportunistas y neoplásicos y los agentes antirretrovirales han logrado modificar sólo parcialmente la historia natural de este proceso, además de ser tóxicos y costosos, nuevas alternativas de tratamiento merecen ser exploradas.

Jorge Kilstein, Raúl Sala, Alcides Greca, Carlos Battagliotti  
Hospital Escuela Eva Perón,  
2152 Granadero Baigorria, Santa Fe

1. Buhl R. Imbalance between oxidants and antioxidants in the lungs of HIV seropositive individuals. *Chem Biol Interact* 1994; 91: 147-58.
2. Greenspan HC, Arouma O. Could oxidative stress initiate programmed cell death in HIV infection? A role for plant derived metabolites having synergistic antioxidant activity. *Chem Biol Interact* 1994; 91: 187-97.
3. Revillard J, Vincent C, Favier A, Richard MJ, Zittoun M, Kazatchkin E. Lipid peroxidation in HIV infection. *J Acq Im Sind* 1992; 5: 637-8.
4. Staal F, Ela SW, Roederer W, et al. Glutathione deficiency and Human Immunodeficiency Virus infection. *Lancet*. 1992; 339: 909-12.
5. Halliwell B, Cross CE. Reactive oxygen species, antioxidants and Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Arch Int Med* 1991; 151: 29-31.
6. Buhl R, Holroyd KJ, Mastrangeli A, et al. Systemic glutathione deficiency in symptom free HIV seropositive individuals. *Lancet*. 1989; 11: 1294-6.
7. Sönerborg A, Carlin G, Akerlund G, Jarstrand C. Increased production of malondialdehyde in patients with HIV infection. *Scand J Infect Dis* 1988; 20: 287-90.
8. Favier A, Sappey C, Leclerc P, Favre P, Micoud M. Antioxidant status and lipid peroxidation in patients infected with HIV. *Chem Bio Interact* 1994; 91: 157-8.
9. Ruibal-Ares B, Riera N, Bracco M. E. Apoptosis. Su papel en la ontogenia del sistema inmune y en la infección por HIV. *Medicina (Buenos Aires)* 1994; 54: 661-71.
10. Baruchel S, Wainberg MA. The role of oxidative stress in disease progression in individuals infected by the human immunodeficiency virus. *J Leukoc Biol* 1992; 52: 111-4.
11. Staal F, Roederer M, Raju PA, et al. Antioxidants inhibit stimulation of HIV transcription. *AIDS-Res-Hum-Retroviruses*. 1993; 9: 299-306.
12. Porta P, Aebi S, Summer K. L-2-oxothiazolidine-4-carboxylic acid, a cysteine prodrug: pharmacokinetics and effects on thiols in plasma and lymphocytes in humans. *J Pharmacol Exp Ther* 1991; 257: 331-4.
13. Aznar Muñoz R. Factor de necrosis tumoral y SIDA. *Med Clin (Barc)* 1995; 104: 29-34.
14. Scheib R, Parenti D, Simon Q. Prolonged antiviral activity of D-penicillamine in human immunodeficiency virus-infected homosexual men. *Am J Med* 1987; 83: 608.
15. Fazely F, Dezube B. Pentoxifylline (Trental) decreases the replication of human immunodeficiency virus type 1 in human peripheral blood mononuclear cells and cultured T cells. *Blood* 1991; 77: 1653-6.
16. Hararek S, Jariwalla R. Comparative study of the anti-HIV activities of ascorbate and thiol-containing reducing agents in chronically HIV-infected cells. *Am J Clin Nutr* 1991; 54: 1231-5.

-----

*Basic research is not the same as development. A crash programme for the latter may be successful; but for the former it is like trying to make nine women pregnant at once in the hope of getting a baby in a month's time.*

La investigación básica no es lo mismo que el desarrollo. Para este último, un programa intensivo puede tener éxito pero para aquella, es como tratar de embarazar nueve mujeres a la vez con la esperanza de obtener un bebé en un mes.

Richard Doll