

## Bioquimia

Volumen **27**  
Volume

Número **2**  
Number

Junio **2002**  
June

*Artículo:*

Evaluación del estado redox y de algunos marcadores inmunológicos en individuos seropositivos al virus linfo-trópico de células T humanas tipo I

Derechos reservados, Copyright © 2002:  
Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, AC

Otras secciones de  
este sitio:

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

*Others sections in  
this web site:*

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)



Medigraphic.com

## INMUNOLOGÍA

# Evaluación del estado redox y de algunos marcadores inmunológicos en individuos seropositivos al virus linfo-trópico de células T humanas tipo I

Lizette Gil<sup>1\*</sup>, Yamina Daumy<sup>2</sup>, Liliana Pérez<sup>2</sup>, Alejandro Alvarez<sup>2</sup>, Héctor Díaz<sup>3</sup>, Caridad Luzardo<sup>2</sup>, Rolando Tápanes<sup>2</sup>, Jorge Pérez<sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Laboratorio de Farmacología Clínica, Atención Médica, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Ciudad Habana, Cuba.

<sup>2</sup> Atención Médica, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Ciudad Habana, Cuba.

<sup>3</sup> Medicina Interna, Laboratorio de Investigaciones de SIDA (LISIDA). La Habana, Cuba.

\*Sobretiros: Laboratorio de Farmacología Clínica, Atención Médica, Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri" (IPK). Autopista Novia del Mediodía, km 6 ½, Marianao 13, PO Box 601, Ciudad Habana, Cuba. e-mail: lgil@ipk.sld.cu; ale@ipk.sld.cu; jorge.perez@ipk.sld.cu

Recibido: 04/12/01 Aceptado: 16/04/02

## RESUMEN

El virus linfotrópico de células T humano de tipo I (HTLV-I) es un retrovirus que produce, entre otras enfermedades, la leucemia de células T del adulto y la paraparesia espástica tropical. Aparentemente la patología es el resultado de la expresión de genes virales y celulares que conducen a la transformación celular, la inmortalización y la enfermedad. En este trabajo nos propusimos evaluar marcadores de la peroxidación lipídica, la concentración de grupos sulfhidrilo y el potencial de peroxidación, cuantificar las subpoblaciones de linfocitos T CD4+ y CD8+ y el marcador de activación CD25 en un grupo de 9 pacientes seropositivos a HTLV-I, asintomáticos y compararlo con los resultados de 10 individuos sanos. Para la medición de los marcadores de estrés se emplearon técnicas espectrofotométricas y para la determinación de las subpoblaciones linfocitarias se empleó la citometría de flujo. Según el ensayo existen diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los dos grupos con respecto a los parámetros marcadores de estrés, exceptuando la concentración de grupos sulfhidrilo totales. El conteo de linfocitos T CD4+ se mantiene dentro de los intervalos normales, se produce un incremento de linfocitos T CD8+ y hay diferencias significativas en los valores relativos de CD25 entre ambos grupos. Estos resultados revelan la presencia de un estado pro-oxidante, con activación de la respuesta celular citotóxica y la activación de la expresión de genes como consecuencia de la linfoproliferación característica de este virus. La determinación de estos indicadores puede resultar de interés para conocer la fisiopatología de la infección y en la posible intervención terapéutica preventiva.

**Palabras clave:** estrés oxidativo, HTLV-I, linfocitos T CD4+, CD25.

## ABSTRACT

Human T cell lymphotropic virus I (HTLV-I) is a retrovirus that causes adult cell leukemia and the neurological disorder known as tropical spastic paraparesis. Pathology apparently results from the expression of viral and cellular genes which might lead to cell transformation, immortalization and disease. The aim of the present study is to compare levels of lipid peroxidation, peroxidation potential and sulfhydryl content measured as oxidative stress indicators in 9 asymptomatic HTLV-I seropositive (HTLV-I+) and 10 healthy individuals (HTLV-I-). These parameters are related to changes in the levels of CD3, CD4, CD8 and CD25 T cell subsets. Spectrophotometric techniques were assayed for evaluation of oxidative stress indicators and flow cytometry for determination of T cell subsets. Significant differences were found ( $p < 0,05$ ) between HTLV-I+ and HTLV-I- subjects regarding to stress indicators, except the concentration of total sulfhydryl group. The CD4+ T lymphocytes count stays inside the normal intervals whereas the CD8+ T lymphocytes count was slightly increased. Relative values of CD25 also showed significant differences between HTLV-I+ and HTLV-I- subjects. These results reveal both the presence of a pro-oxidant state with the activation of the cytotoxic cellular response and the activation of cellular gene expression. These determinations may be of interest for knowledge of physiopathology of the infection and for possible preventive therapeutic interventions.

**Key words:** oxidative stress, HTLV-I, CD4+ T lymphocytes, CD25.

## Introducción

El virus linfotrópico de células T humano de tipo I (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). 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 África, América Central, suroeste de EE.UU. y en el área del Caribe; aunque se reportan casos en otras áreas geográficas. Se estiman entre 10 a 20 millones de personas portadoras de HTLV-I en el mundo <sup>1-2</sup>.

El HTLV-I es un retrovirus de carácter inmuno-proliferativo que a partir del gen tax codifica para una proteína de 40 KDa 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<sup>3</sup>. Ahora se conoce que la proteína Tax es muy promiscua y capaz de trans-activar promotores heterologos, además de su propio LTR<sup>4</sup>. 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 regulatorios celulares mediada por proteínas bHLH en presencia de Tax<sup>5,6</sup>.

En investigaciones recientes se ha reportado que Tax estimula un estado pro-oxidante *in vitro* que es seguido de muerte celular por apoptosis. El estrés oxidativo, 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 especies reactivas de oxígeno (EROs) 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)<sup>7-10</sup>. Lo cual sugiere que una de las funciones de Tax es estimular la producción de EROs que son necesarias para la activación de NF-κB<sup>11</sup>. 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<sup>12</sup>.

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<sup>13</sup>, estas y otras evidencias corroboran la vinculación del estrés oxidativo con la patogénesis de las enfermedades vírales<sup>14-16</sup>.

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 correspondió a un índice de seropositividad de 0.065%. Ello motivó a estandarizar un ELISA para la detección de anticuerpos VLTH-I/II y de un ensayo de inmunoelectrotransferencia (Western Blot) para su confirmación.

Hasta el 31 de diciembre de 1997 se habían estudiados 29 423 personas y 13 de ellas se diagnosticaron como seropositivas al HTLV-I, para un índice general de seropositividad de 0,044%, que es bajo con respecto al área<sup>17,18</sup>.

Motivados por estas evidencias se evaluaron marcadores del estado redox (grupos sulfhidrilos no proteínicos (GSH), grupos sulfhidrilos totales (TSH), malondialdehído (MDA), potencial de peroxidación (PP) y cuantificar las subpoblaciones de linfocitos CD4+ y CD8+ y el marcador de activación CD25 en pacientes

seropositivos al HTLV-I asintomáticos y compararlo con los resultados de la evaluación de estos marcadores en individuos sanos y obtener una evaluación integral del estado tóxico-metabólico de estos individuos y de la extensión del proceso de estrés oxidativo en el estado asintomático de la enfermedad.

## Materiales y métodos

Se emplearon muestras de suero y sangre de 9 pacientes asintomáticos infectados con HTLV-I cuyo intervalo de edad es de 36-53 años. De los estudios epidemiológicos realizados se pudo concluir que cuatro de ellos adquirieron la infección por vía de transfusiones de sangre y cinco por relaciones sexuales con seropositivos. El intervalo de tiempo de contagio es de 8-12 años al momento de la toma de muestra. También se colectaron muestras de suero y sangre de 10 individuos supuestamente sanos, seronegativos al HTLV-I, cuyo rango de edad fue similar al de los pacientes seropositivos. Todos los individuos seleccionados para el estudio estuvieron de acuerdo en su participación mediante la firma de un consentimiento informado. Los procedimientos desarrollados estuvieron de acuerdo con las normas éticas del Comité Científico y de Etica del Instituto Pedro Kourí, de Cuba.

Este grupo de pacientes constituye el total de seropositivos existentes en el país al momento de la toma de muestra. Las muestras de sangre fueron colectadas en EDTA y las muestras de suero fueron almacenadas en congelación a -70° C hasta su procesamiento. Para la cuantificación de TSH y GSH se empleó una modificación de la técnica descrita por Sedlak y Lindsay (1968) que utiliza el reactivo de Ellmans<sup>19,20</sup>.

El malondialdehído (MDA) se determinó añadiendo a 200 μL de muestra 650 μL de una solución recién preparada compuesta por 38 mg de n-metil 2 fenil indol en 18 mL de acetonitrilo y 6 mL de metanol. La mezcla se agito y se le añadió 150 μL de ácido clorhídrico (HCl), luego se agitó, se incubó a 45° C durante 40 min. Después de este tiempo se dejó enfriar a temperatura ambiente y se centrifugó a 300 g durante 15 minutos y se leyó a 586 nm en un espectrofotómetro (Pharmacia)<sup>21</sup>.

Para la determinación de la susceptibilidad a la peroxidación lipídica (PP), se incubaron muestras de suero con una solución de sulfato de cobre II (2mM, concentración final) a 37° C por 24 h. El PP se estimó sustrayendo del valor de concentración de MDA determinado a las 24 horas el obtenido al tiempo cero<sup>22</sup>

Se realizó un estudio de subpoblaciones de linfocitos T cooperadores (CD3+/CD4+) y linfocitos citotóxicos (CD3+/CD8+) en sangre total destruyendo previamente a los eritrocitos, para lo que se emplearon reactivos Becton Dickinson (BD) Tri Test™ CD3,

CD45, CD4 y CD3, CD45, CD8 respectivamente. La determinación de CD25 se realizó con el reactivo CD25 (anti-IL-2R) (BD). El estudio se realizó en un citómetro de flujo modelo FACScan (Becton Dickinson Immunocytometry System), el cual fue preparado para el análisis de las muestras, empleándose para este fin, perlas de calibración (BD) Calibrite™ 3. De esta forma se verificó el ajuste de detectores y se comprobó la sensibilidad del equipo. Finalmente se verificó que cada muestra cumpliera con los criterios necesarios de calidad <sup>23,24</sup>.

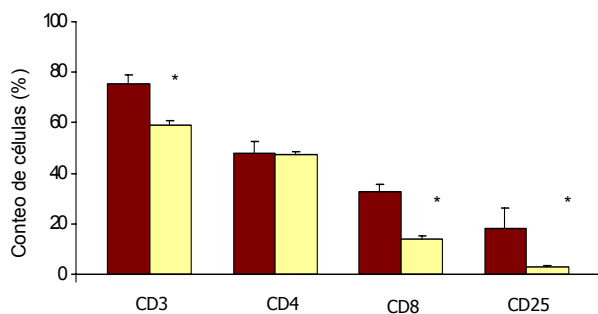
## Análisis estadístico

Se empleó el método de comparación de medias de Kruskal-Wallis. La prueba de la mínima diferencia de Fisher fue realizada para determinar las diferencias entre cada grupo, cuando el análisis de comparación fue significativo. Las diferencias fueron consideradas significativas cuando  $p < 0,05$ . Todos estos parámetros fueron evaluados en el programa STATISTICA (1993) <sup>25</sup>.

## Resultados

Los valores de la determinación de los marcadores inmunológicos para cada grupo se muestran en los Cuadros 1 y 2 así como la comparación estadística en la figura 1.

Desde el punto de vista cuantitativo, el análisis de las medias de los valores de CD3 y CD8 entre las poblaciones de portadores e individuos supuestamente sanos (Figura 1), reveló que existen diferencias significativas, a pesar de que sus medias se corresponden con los valores de referencia (Cuadro 1 y 2). Los valores del marcador de activación CD25 se encuentran por encima del intervalo de referencia según la edad para el grupo de pacientes (Cuadro 2). La



**Figura 1.** Valores relativos de subpoblaciones linfocitarias en pacientes seropositivos al HTLV-I e individuos sanos.

**Leyenda:** HTLV-I: grupo de 9 pacientes seropositivos al HTLV-I  
**Control:** grupo de 10 individuos sanos. Las barras representan la media de los valores relativos de las subpoblaciones linfoides CD3, CD4, CD8, CD25 y la desviación estándar. El asterisco (\*) indica diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) en la comparación de las medias del grupo de pacientes con respecto al control.

**Cuadro 1:** Valores relativos de subpoblaciones linfoides en individuos sanos.

Individuos	CD3 %	CD4 %	CD8 %	CD25 %
1	58.00	45.21	17.15	2.40
2	61.00	57.40	13.20	1.73
3	59.00	44.00	15.00	2.60
4	63.00	45.00	14.30	4.50
5	55.00	43.10	13.60	4.26
6	54.71	57.71	15.11	3.18
7	57.00	47.40	14.20	2.00
8	61.49	52.61	13.00	1.90
9	56.30	50.82	14.00	2.30
10	57.15	45.13	13.76	2.41
VR	55-84	31-60	13-41	< 5

VR: valores de referencia según la edad <sup>26</sup>.

**Cuadro 2:** Valores relativos de subpoblaciones linfoides en pacientes seropositivos al HTLV-I.

Pacientes	CD3 %	CD4 %	CD8 %	CD25 %
1	69.00	53.73	33.08	25.02
2	76.00	51.44	26.42	17.52
3	75.00	46.00	34.00	12.59
4	80.00	57.00	33.60	33.80
5	75.90	47.40	33.60	24.18
6	76.28	44.71	32.75	19.27
7	72.50	44.06	31.70	14.51
8	71.84	43.00	36.80	7.14
9	81.00	44.13	33.00	10.60
VR	55-84	31-60	13-41	< 5

VR: valores de referencia según la edad <sup>26</sup>.

comparación de medias entre el grupo seropositivo a HTLV-I y el control (Figura 1), muestra que existe diferencia significativa en esta subpoblación linfocitaria.

El fenotipo T CD4 en los individuos seropositivos tuvo valores que se encuentran en el rango establecido como normal y la comparación de las medias respecto a la población control no manifestó diferencias significativas. Los valores de la determinación de los marcadores del estado redox para cada grupo se muestran en los Cuadros 3 y 4.

La media de la concentración de grupos TSH en el plasma de los pacientes es ligeramente inferior al grupo control, aunque no presentan diferencias significativas (Cuadros 3 y 4).

Cuadro 3: Marcadores de estado redox en individuos sanos.

Individuos	SHT $\mu\text{g/mL}$	GSH $\mu\text{g/mL}$	MDA $\mu\text{M}$	PP
1	300.35	230.74	0.73	4.63
2	189.41	170.13	0.69	6.50
3	250.23	207.62	0.38	4.23
4	241.31	218.70	0.47	5.18
5	185.50	178.59	0.70	6.22
6	208.10	200.50	0.36	5.39
7	264.62	186.73	0.72	6.43
8	227.68	220.12	0.54	4.27
9	146.43	200.75	0.62	6.75
10	274.84	221.34	0.41	4.54
<b>Media Control</b>	<b>229.24<math>\pm</math>80.43</b>	<b>202.08<math>\pm</math>28.65</b>	<b>0.52<math>\pm</math>0.21</b>	<b>5.24<math>\pm</math>1.19</b>

SHT: grupos sulfhidrilos totales, GSH: grupos sulfhidrilos no proteínicos- glutatión, MDA: malondialdehído PP: potencial de peroxidación. Los resultados se muestran como medias  $\pm$  desviación estándar (DE).

En la determinación de grupos sulfhidrilos no proteínicos cuyo componente mayoritario es el GSH, se observó que en todos los pacientes este compuesto se encontraba disminuido en el suero y la diferencia fue significativa entre la media del grupo HTLV-I y el control (Cuadro 4).

Los valores de MDA están incrementados en los pacientes seropositivos estudiados. El análisis de las medias de las dos poblaciones reveló que existe diferencia significativa. Estos resultados sugieren una elevada peroxidación lipídica, que se justifica por la formación del derivado tóxico formado (Cuadro 4).

En la determinación del PP, que es inversamente proporcional a la capacidad antioxidante en el suero, los resultados muestran diferencias significativas entre las poblaciones comparadas. El grupo de pacientes seropositivos presentó valores elevados respecto al control lo cual sugiere una baja capacidad antioxidante del suero en los individuos infectados. Este resultado conjuntamente con el incremento del daño oxidativo a lípidos revela la existencia de un estado de estrés oxidativo, por la generación de especies reactivas de oxígeno (ERO).

## Discusión

El incremento de los valores relativos de linfocitos T CD8+ sugiere que existe una activación de linfocitos T citotóxicos, principales protagonistas en la respuesta inmune celular frente a virus y la producción de citocinas proinflamatorias que influyen, conjunta-

Cuadro IV: Marcadores de estado redox en pacientes seropositivos al HTLV-I.

Pacientes	SHT $\mu\text{g/mL}$	GSH $\mu\text{g/mL}$	MDA $\mu\text{M}$	PP
1	201.59	106.06	1.30	24.91
2	193.29	113.64	2.12	23.53
3	197.61	106.06	1.68	29.38
4	168.05	136.36	1.20	24.86
5	251.74	102.27	3.20	21.96
6	244.10	117.42	2.00	16.79
7	162.07	109.85	0.82	17.86
8	186.32	117.42	2.66	22.37
9	208.24	106.06	1.14	20.29
<b>Media HTLV-I</b>	<b>201.44<math>\pm</math>30.35</b>	<b>112.79<math>\pm</math>10.33</b>	<b>1.79<math>\pm</math>0.77</b>	<b>22.43<math>\pm</math>3.85</b>
<b>Media Control</b>	<b>229.24<math>\pm</math>80.43</b>	<b>202.08<math>\pm</math>28.65</b>	<b>0.52<math>\pm</math>0.21</b>	<b>5.24<math>\pm</math>1.19</b>
<b>p</b>	<b>0.1457</b>	<b>0.0001</b>	<b>0.0001</b>	<b>&lt; 0.0001</b>

SHT: grupos sulfhidrilos totales, GSH: grupos sulfhidrilos no proteínicos- glutatión, MDA: malondialdehído PP: potencial de peroxidación.

Los resultados se muestran como medias  $\pm$  desviación estándar. La p resulta de la comparación de la media de los pacientes con respecto al control (ver materiales y métodos para detalles).

mente en la estimulación de la vía CD3/TCR, en los mecanismos oxidativos y en la apoptosis de las células hospedadas <sup>10</sup>.

Aunque estos pacientes difieren en el tiempo de infección, por los resultados se corrobora que el virus no provoca supresión de células T, coincidiendo con lo reportado en la literatura, sino que por el contrario induce linfoproliferación y su expresión influye en la manifestación de moléculas de adhesión; conjuntamente con la transactivación de ciertos genes celulares, tales como: el que codifica para la cadena  $\alpha$  del receptor de IL-2 (CD25) y el que codifica para la IL-2, genes que están involucrados en la proliferación de células T <sup>7,27,28</sup>.

Los grupos sulfhidrilos del plasma tienen una función protectora importante ya que funcionan como antioxidantes y su disminución se ha visto asociada a la oxidación por la presencia de ERO como: anión superóxido, peróxido de hidrógeno y radical hidróxilo.

La presencia de grupos SH oxidados también puede contribuir a potenciar el estrés oxidativo por la generación adicional de ERO dependiente de índices específicos de pH, presencia de metales y concentración de SH oxidados. En nuestro caso los resultados revelan un consumo moderado de estos grupos. Por lo anterior asumimos la necesidad de profundizar en el estudio de este indicador caracterizando los mecanismos moleculares que contribuyen a él.

Estudios de esta naturaleza han evidenciado fluctuaciones para las concentraciones de diferentes tioles corroborando ambas funciones como antioxidante y como pro-oxidante. Estos valores podrían estar revelando solapamiento en las fluctuaciones de las diversas moléculas que no afecta el valor total<sup>29</sup>.

Al formarse ERO, que dañan tanto a proteínas como a lípidos, el GSH actúa como molécula antioxidante y se oxida por mecanismos enzimáticos. Estos resultados pueden indicar no solo que esté oxidado por exceso de ERO en el medio, puesto que en el proceso de recuperación del GSH también intervienen enzimas que son responsables de la regulación y el control de la actividad del GSH, como son la glutatión peroxidasa dependiente de selenio (GPx) y la glutatión reductasa (GR). Estas enzimas pueden haber sido blanco del ataque oxidativo con afectación de la actividad biológica lo que repercutiría en la transformación del GSH oxidado al estado reducido<sup>29</sup>.

Se ha encontrado una estrecha relación entre la elevación de las concentraciones de algunos productos terminales de la peroxidación lipídica, la activación de proto-oncogenes y la promoción de tumores<sup>30</sup>.

El papel de la proteína Tax, durante la infección despierta nuevos debates. Por una parte, la expresión del gen Tax induce una permanente activación de NF-κB, el cual es un buen marcador de ERO, que favorece la apoptosis. Esta observación indica que cambios en el estado redox intracelular podrían ser un factor determinante en el daño al ADN (mediado por Tax), en la apoptosis, y en la selección contra la expresión de la función Tax<sup>10,31</sup>. De estos resultados podemos especular que el estado pro-oxidante reconocido *in vivo* es amplificador de la actividad de Tax y mediador de la transactivación de genes celulares como el receptor de IL2 (CD25) que participa de la regulación y proliferación de células T dianas del virus, que puede mediar la transformación maligna. En las muestras de los pacientes asintomáticos evaluados se observó un ligero incremento de la actividad citotóxica característica de la infección por virus endógenos.

Se conocen las propiedades estimuladoras del virus, como también el bajo porcentaje de pacientes que tienen manifestaciones inmunopatológicas de la infección y no todos los portadores desarrollan enfermedades asociadas; por lo que la detección de estas alteraciones no indicaría que dichos casos manifestaran el cuadro clínico relacionado con la infección por HTLV-I. Reconociendo que los pacientes estudiados son asintomáticos sería interesante dar seguimiento a estos marcadores que no constituyen indicadores de diagnóstico y definir si las alteraciones en los mismos se relacionan a las manifestaciones clínicas de acuerdo a la progresión de una u otra de las enfermedades, lo que pudiera contribuir a la

intervención terapéutica preventiva, así como al conocimiento de la fisiopatología de la enfermedad.

## Agradecimientos

Los autores agradecemos a la firma RANDOX Ltd. (Diamond Road, Crulim Co. Antrim, UK BT2946y) por su colaboración en la confección de este trabajo.

## Referencias

- Harrington WJ, Sheremata WA, Snodgrass SR, Emerson S, Phillips S, Berger JR. Tropical spastic paraparesis/ HTLV-I-associated myelopathy (TSP/HAM): treatment with an anabolic steroid danazol. *AIDS Res Hum Retroviruses* 1991; 7: 1031-4.
- Eisenlohr LC, Yewdell JW, Bennink JR. Pathogenesis of chronic progressive myelopathy associated with human T cell lymphotropic virus type I. *J Exp Med* 1992; 175: 481-7.
- Mattews MA, Markowits RB, Dynan WS. *In vitro* activation of transcription by the human T-cell leukemia virus type I Tax protein. *Mol Cell Biol* 1992; 12 (5):1986-96.
- Tschachler E, Bohnlein E, Feizmann S, Reitz MS Jr. Human T lymphotropic virus type I tax regulates the expression of the human lymphotoxin gene. *Blood* 1993; 81: 95-100.
- Yoshida M. HTLV-I Tax: regulation of gene expression and disease. *Trends Microbiol* 1993;1(4):131-5
- Uittenbogaard MN, Armstrong AP, Chiaramello A, Nyborg JK. Human T-cell leukemia virus type I Tax protein represses gene expression through the basic helix-loop-helix family of transcription factors. *J Biol Chem* 1994; 269 (36): 22466-9.
- Crenon I, Beraud C, Simard P, Montagne J, Veschambre P, Jalinot P. The transcriptionally active factor mediating the effect of the HTLV-I tax transactivator on the IL-2 R alpha kappa B enhancer included the product of the c-rel protooncogene. *Oncogene* 1993; 8:867-75.
- Buttke TM, Sandstrom PA. Oxidative stress as a mediator of apoptosis. *Immunol Today* 1994; 15: 7-10.
- Curtis VE, Smilde R, McGuire KL. Requirements for interleukin 2 promoter transactivation by the Tax protein of human T-cell leukemia virus type I. *Mol Cell Biol* 1996; 16 (7): 3567-75.
- Los M, Khazaie K, Schulze-Osthoff K, Baeuerle PA, Schirmmarcher V, Chlichlia K. Human T-cell leukemia virus-I (HTLV-I) Tax-mediated apoptosis in activated T cells requires an enhanced intracellular prooxidant state. *J Immunol* 1998;161(6): 3050-5.
- Okamoto T, Sakurada S, Yang J, Merin J. Regulation of NF-κB and diseases control: Identification of a novel serine kinase and thioredoxin as effectors for signal transduction pathway for NF-κB activation. *Current Top Cell Reg* 1997; 35: 149-61.
- Schreck R, Grassmann R, Fleckenstein B, Baeuerle PA. Antioxidants selectively suppress activation of NF-kappaB by human T-cell leukemia virus type I Tax protein. *J Virol* 1992; 66 (11): 6288-93.
- Baier-Bitterlich G, Baier G, Fuchs D, Bock G, Hausen A, Utermann G, et al. Role of 7,8-dihydroneopterin in T-cell apoptosis and HTLV-I transcription *in vitro*. *Oncogene* 1996;13(10):2281-5.
- Dianzani MU. Lipid peroxidation and cancer. *Critical Reviews in Oncology. Hem* 1993; 15: 125-47.
- Schwarz KB. Oxidative stress during viral infection- a review. *Free Radic Biol Med* 1996; 21: 64411-9.
- Nakamura H, Nakamura K, Yodoi J. Redox regulation of cellular activation. *Annu Rev Immunol* 1997; 15: 351-69.
- Rolo F, De Armas MB, Mato J, Lubian AL, Diaz H. Confirmation of the presence in Cuba of Human T-cell Lymphotropic virus type I using the polymerase chain reaction. *Rev Cubana Med Trop* 1997; 47(3):204-8.

18. Lubian AL, Diaz HM, Silva E, Perez MT, Cruz O, de la Fuente JL, et al. Seroprevalence of the HTLV-I infection in different risk groups studied in Cuba. *Rev Cubana Med* 1998; 37(4):199-204.
19. Sedlak J, Lindsay RH. Estimation of total protein bound and non protein sulfhydryl group in tissue with Ellman's reagent. *Anal Biochem* 1968; 25:192-205.
20. Calpena AC, Escribano E, Fernández C. Validación de los métodos analíticos. *Farmacia Clínica* 1990; 7(9): 749-58.
21. Erdelmeier I, Gerard MD, Yadan JC, Chaudiere J. Reactions of N methyl-2-phenylindole with malondialdehyde and 4-hydroxialkenals. Mechanistic aspects of the colorimetric assay of lipid peroxidation. *Chem Res Toxicol* 1998; 11(10): 1184-94.
22. Ozdemirler G, Mehmetcik G, Oztezcan S, Toker G, Sivas A, Uysal M. Peroxidation potential and antioxidant activity of serum in patients with diabetes mellitus and myocard infarction. *Metab Res* 1995; 271: 194-6.
23. Giorgi JV. Characterization of T lymphocytes subset alterations by flow cytometry in HIV disease. *Ann NY Acad Sci* 1993; 677: 126-37.
24. Calvelli T, Denny TN, Paxton H, Gelman R, Kagan J. Guidline for flow cytometric immunophenotyping: a report from the National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Division of AIDS. *Cytometry* 1993;14: 702-15.
25. Peterhans E. Oxidants and antioxidants in viral disease: disease mechanism and metabolic regulations. *J Nutr* 1997; 127 (5 suppl):962s-5s.
- 26- Villanova PA. How to define and determine reference intervals in the clinical laboratory. Approved guideline. National Committee for Clinical Laboratory standards 1992; NCCLS document C28-A.
27. Tendler CL, Greenberg SJ, Blattner WA. Transactivation of interleukin-2 and its receptor induces immune activation in human T cell lymphotropic virus type I- associated myelopathy: pathogenic implications and a rationale for immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87:5218-22.
28. Copeland KF, Heeney JL. T helper cell activation and human retroviral pathogenesis. *Microbiol Rev* 1996; 60 (4): 722-42.
29. Muller F, Svardal A, Aukrust P, Berge RK, Ueland PM, Froland S. Elevated plasma concentration of reduced homocysteine in patients with human immunodeficiency virus infection. *Am J Clin Nutr* 1996; 63: 242-8.
30. Cheeseman KH. Lipid peroxidation and cancer. *DNA and free radicals*. Ed Halliwell B, Aruoma OI. Ellis Horwood 1993:109-44.
31. Furuke K, Sasada T, Ueda TY, Yamauchi A, Inamoto T, Yamaoka Y, et al. Role of intracellular redox status in apoptosis induction of human T cell leukemia virus type I infected lymphocytes by 13 cys retinoic acid. *Cancer Res* 1997; 57 (21): 4916-21.