

**RECEPTOR SOLUBLE DE INTERLEUQUINA-2 (RsIL-2)
EN SUEROS DE INDIVIDUOS INFECTADOS POR VIRUS DE
INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH)**

**SOLUBLE INTERLEUKIN-2 RECEPTOR (sIL-2R)
IN SERA OF PATIENTS WITH HUMAN
IMMUNODEFICIENCY VIRUS (HIV)**

*Tania Romero Adrián**

RESUMEN

Receptor soluble de interleuquina-2 (RsIL-2), fue medido en suero por el método de ELISA (T Cell Science U.S.A.) en 17 pacientes VIH positivos, 11 hombres homosexuales VIH Negativos (H.S.M.) y 22 controles (C) normales. Nuestros resultados muestran diferencias estadísticamente significantes en la liberación de RsIL-2 entre pacientes VIH positivos (684 ± 522 U/ml) en comparación con VIH negativos (HSM) (411 ± 248 U/ml) y controles (317 ± 155).

*Profesora Titular de la Cátedra de Parasitología. Magister Scientiarum en Inmunología Clínica. Escuela de Medicina - Facultad de Medicina. Apdo. 526. C.P. 4011. Maracaibo, Venezuela.

PALABRAS CLAVES:

Receptor soluble de Interleuquina-2 (Rs IL-2); virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y receptor de membrana para Interleuquina 2 (RmIL-2).

ABSTRACT

Soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) was measured in sera by ELISA (T Cell Science U.S.A.), in 17 HIVpositives patients, 11 HIV negatives homosexual men (HSM) and 22 normal controls (C). Our results showed significant differences in the release of sIL2R in HIV-positives patients (684 ± 522 U/ml) when compared with VIH negatives(HSM) (411 ± 248 U/ml) and controls (317 ± 155 U/ml).

KEYWORDS:

Soluble interleukin-2 (sIL-2R); human immunodeficiency virus (HIV) and membrane interleukin-2 receptor (mIL-2 R).

INTRODUCCION

El virus de inmunodeficiencia humana (VIH) agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) tiene la capacidad de infectar selectivamente al sistema inmunológico. Sus efectos citopáticos sobre poblaciones linfocitarias, así como la acción inmunosupresora del VIH determina alta susceptibilidad a infecciones oportunistas y al desarrollo de neoplasias. El defecto del sistema inmune parece ser progresivo e irreversible, con alta mortalidad la cual se estima que puede alcanzar un 100% después de varios años.

Entre las numerosas alteraciones inmunológicas observadas durante el curso de una infección por VIH se reportan: 1) Disminución de la producción de IL-2. 2) Expresión de RmIL-2 disminuida acom-

pañada de niveles bajos de RsIL-2 en sobrenadantes de cultivo. 3) Aumento de receptor soluble (rsIL-2) en suero de pacientes VIH+. 4) Síntesis de DNA inducida por PHA disminuida.^{12, 13, 14}

Recientemente varios investigadores^{7, 14} han reportado la importancia de la liberación del receptor soluble de IL-2 el cual tiene un peso molecular de 40.000 daltons y es capaz de unirse a la IL-2 circulante. El RsIL-2 es liberado de células T activadas durante cultivo in vitro y puede ser detectado en sobrenadantes de cultivo de CMSP estimuladas con PHA, antígenos, anticuerpo monoclonal OKT3, Toxoide tetánico y células alogénicas. Valores séricos elevados han sido encontrados en pacientes con leucemia de células T, enfermedad de Hodgkin y Linfoma no Hodgkin, Síndrome de Sézary, Tuberculosis, Leucemia Linfocítica aguda o crónica, SIDA y rechazo de trasplante de hígado.^{1, 2, 6, 9, 10, 16, 17, 20, 21}

La liberación de RsIL-2 parece ser un marcador característico de activación de linfocito T y podría servir como expresión de función inmunorregulatoria durante el crecimiento y diferenciación de células anormales y normales. Debido a que el receptor soluble puede unirse a la IL-2 circulante, esto podría potencialmente afectar la respuesta inmunológica dependiente de esta última.^{18, 19}

En pacientes con infección por VIH se ha reportado un aumento de la liberación de RsIL-2 en suero, cuya procedencia aún no ha sido precisada, es decir, se desconoce si viene del pool recirculante o del no recirculante. Además, los mecanismos de liberación del receptor soluble no han sido hasta ahora determinados, hipotetizándose que éste podría provenir de la proteólisis del Rm IL-2, muerte celular o un posible re-arreglo del ARNm específico para el receptor con posible pérdida de las secuencias que codifican para su péptido de anclaje a la membrana.¹⁸

Tomando como base lo señalado, quisimos investigar la importancia pronóstica de los niveles séricos de receptor soluble de IL-2 en grupos clínicos de infección VIH.

MATERIALES Y METODOS

Fueron estudiados 17 pacientes VIH positivos, homosexuales de la Unidad de Inmunología Clínica del Instituto de Anatomía Patológica de la Universidad Central de Venezuela. Así como 22 controles donantes voluntarios aparentemente sanos del Banco de Sangre del Hospital Universitario de Caracas, Venezuela, e individuos previamente seleccionados. Como un segundo control se incluyó a 11 individuos de alto riesgo, homosexuales VIH negativos.

A todos los individuos estudiados se les realizó: historia clínica con revisión de antecedentes patológicos, hematología completa, heces, Rayos X de Tórax A.P. La clasificación del grupo clínico para los pacientes VIH positivos se hizo según revisión del CDC de Atlanta.^{3,4}

La presencia de anticuerpos anti VIH se realizó mediante el ensayo inmunoenzimático (DUPONT HIV 1 EIA) y la especificidad contra proteínas aisladas por el ensayo inmunoenzimático ya estandarizado (BIOTECH-DUPONT HIV Western Blot, DUPONT Company, Wilmintong, U.S.A.).

Para la cuantificación del receptor soluble de IL2 en suero, se utilizó un método inmunoenzimático de doble anticuerpo (Cell free IL-2R, T Cell Science Cambridge U.S.A.), donde el receptor soluble de IL2 presente en el suero es capturado por el anticuerpo monoclonal anti RIL-2 (Anti Tac), adsorbido previamente a la superficie de los micro pozos de una placa de poliestireno. La presencia del receptor se reveló mediante el uso de un segundo anticuerpo Anti RIL-2 7G7/B6, conjugado con peroxidasa (HRP) usando OPD (Ortofenilendiamina), como sustrato siguiendo las especificaciones del estuche comercial. El valor medio de las absorbancias de los estándares en U/ml de Rs IL2 se graficó con sus respectivas concentraciones 0, 100, 400, 800 y 1.600 U/ml de Rs IL2. Esta curva estándar fue diseñada (Fig. 1) para poder determinar los niveles de Rs IL2 en los individuos estudiados.

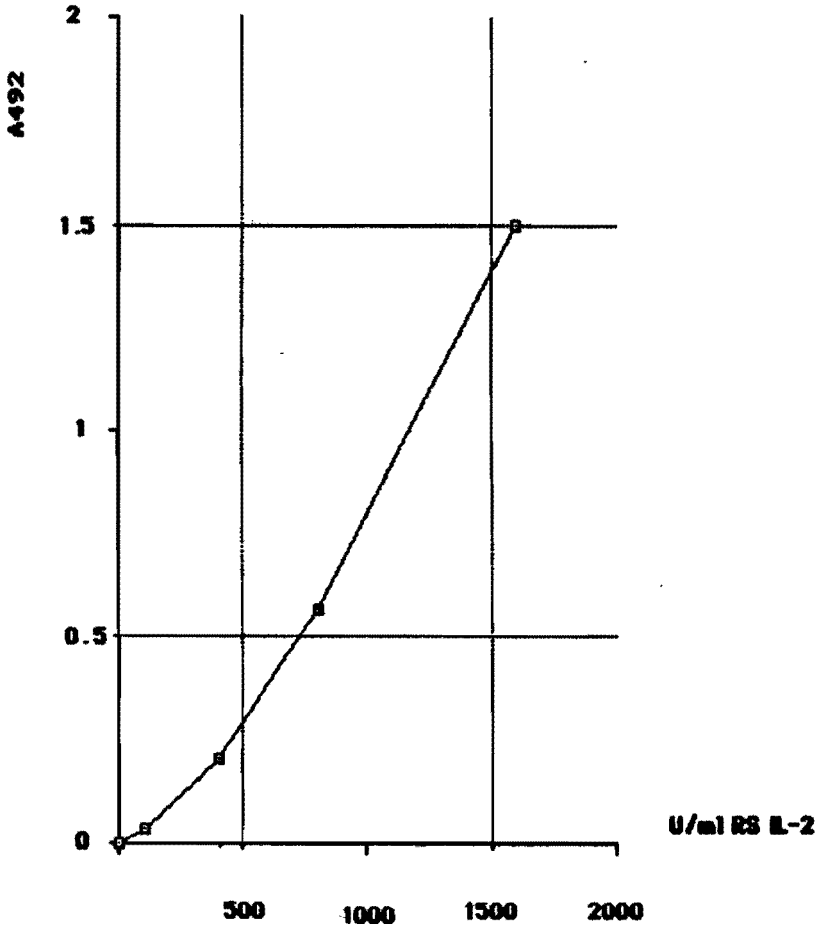


Fig. 1. Curva estándar para Rs IL-2

RESULTADOS

La determinación del receptor soluble de los grupos estudiados se muestran en las Tablas 1 y 2 y en la Fig. 2. Como puede apreciarse, 9 de 17 individuos VIH positivos sintomáticos o asintomáticos (T) (53%), 5 de 12 individuos VIH positivos asintomáticos (A) (42%), 4 de 5 individuos VIH positivos sintomáticos (ST) (80%), tenían niveles elevados de receptor soluble en suero. En relación a VIH negativo

TABLA 1
RECEPTOR SOLUBLE EN SUERO

CONTROLES	VIH ⁻ AR	VIH ⁺ (T)
N ^o	N ^o	N ^o
1 - 230	1 - 330	1 - 230
2 - 170	2 - 460	2 - 290
3 - 170	3 - 430	3 - 170
4 - 160	4 - 620	4 - 200
5 - 220	5 - 230	5 - 190
6 - 220	6 - 50	6 - 370
7 - 160	7 - 500	7 - 250
8 - 200	8 - 300	8 - 350
9 - 490	9 - 1000	9 - 530
10 - 170	10 - 250	10 - 700
11 - 300	11 - <u>350</u>	11 - 670
12 - 620	\bar{x} 411 248	12 - 1070
13 - 350		13 - 1600
14 - 360		14 - 1600
15 - 300		15 - 1600
16 - 450		16 - 1100
17 - 200		17 - <u>700</u>
18 - 250		\bar{x} 684 522
19 - 560		
20 - 400		
21 - 300		
22 - <u>700</u>		
\bar{x} 317 ±155		

TABLA 2
RECEPTOR SOLUBLE EN SUERO

U/ml Rs IL-2		
VIH* (A) Nº	VIH* (ST) Nº	VIH* (SIDA) Nº
1 - 230	2 - 290	2 - 290
3 - 170	14 - 1600	15 - 1600
4 - 200	15 - 1600	17 - <u>700</u>
5 - 190	16 - 1100	\bar{x} 863 ± 670
6 - 370	17 - 700	
7 - 250	\bar{x} 1058 ± 572	
8 - 350		
9 - 530		
10 - 700		
11 - 670		
12 - 1070		
13 - 1600		
\bar{x} 527 ± 433		

(HSM) sólo 3 de 11 individuos (27%) y a controles 4 de 22 (18%), tenían valores por encima de su límite normal (477 ± 2).

Los niveles de receptor soluble de IL-2 de los VIH positivos (T), se encuentran significativamente elevados con respecto a lo observado en el grupo control ($P < 0,0005$) y en el grupo de alto riesgo (HSM) ($P < 0,05$) el cual presentó niveles más altos que los controles, pero no significantes. Por otra parte, si al grupo VIH positivo (T) le excluimos los pacientes sintomáticos (ST) entre los cuales están incluidos los casos de SIDA, podemos observar que los pacientes asintomáticos (A) presentan niveles significativamente elevados ($P < 0,05$), con respecto a los controles pero no en relación al grupo seronegativo de alto riesgo (Tabla 3).

DISCUSION

La presencia del receptor soluble de IL-2 en concentraciones elevadas en el suero de pacientes con infección por Virus de Inmuno-

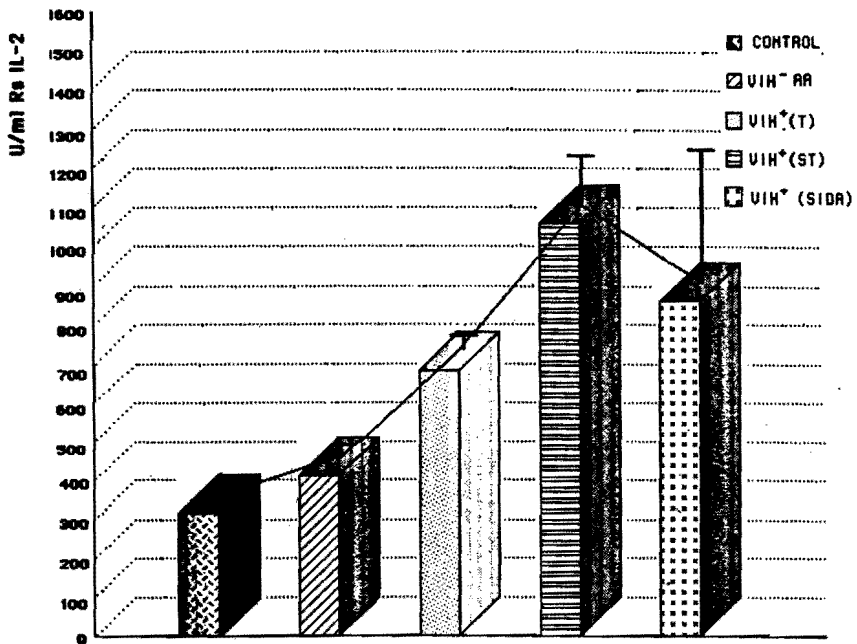


Fig. 2. Receptor soluble en suero

TABLA 3

RECEPTOR SOLUBLE EN SUERO

	U/ml	Rs IL-2	P ₁	P ₂
Controles	317 ± 155			
VIH ⁻ AR	411 ± 248		NS	
VIH ⁺ (T)	684 ± 522		P < 0,0005	P < 0,05
VIH ⁺ (A)	527 ± 433		P < 0,05	NS

P₁ Significancia estadística de Rs IL-2 entre individuos VIH⁻ AR, VIH⁺ (T), VIH⁺(A) y controles.

P₂ Significancia estadística de Rs IL-2 entre individuos VIH⁻ (T), y VIH⁺ (A) con respecto a VIH⁻ AR.

deficiencia humana, ha sido motivo de estudio en los últimos años dado su papel potencial como mecanismo inmunomodulador en este tipo de patología.^{14, 15} Estos valores elevados de Rs IL-2 no son sin embargo un fenómeno exclusivo de la infección por VIH ya que ha sido observado en pacientes con otras patologías ya referidas en el texto. Según Kloster⁸ en pacientes con SIDA la presencia de valores de Rs IL-2 puede contribuir al estado de inmunodeficiencia observado ya que Rs IL-2 se une a IL-2 y ello podría bloquear la unión de la linfoquina a los receptores de superficie celular.

Nuestros resultados muestran que los individuos VIH positivos (T) liberan en forma significativa mayor cantidad de Rs IL-2 en comparación de VIH negativos (HSM) y controles. VIH negativo (HSM) presentan un incremento no significativo de Rs IL-2 con respecto a controles. Reddy y Col.¹⁵ reportan diferencias significativas entre controles y VIH negativos (HSM), así como, entre estos últimos y VIH positivos.

En nuestro estudio los individuos VIH negativos (HSM) tendieron a presentar valores mayores que el grupo control, con significancia no establecida debido probablemente al número reducido de pacientes estudiados.

La comparación de la liberación de Rs IL-2 sérico de los diferentes grupos incluidos en el estudio demuestran claramente (Fig. 2), que los niveles de Rs IL-2 presentan una curva ascendente entre controles, VIH negativos (HSM) y VIH positivos (ST), con descenso en los VIH positivos (SIDA).

Nuestros hallazgos sugieren que los niveles incrementados de Rs IL-2 en suero están relacionados con el grupo clínico de infección VIH ya que en individuos VIH positivos (A) y VIH positivos (ST) obtuvimos un 42 y 80% respectivamente de niveles elevados de Rs IL-2, niveles estos comparables a los reportados por Reddy y Col.¹⁵

Este aumento apreciable de Rs IL-2 sérico al avanzar la enfermedad pudiese implicar un peor pronóstico. Sin embargo, los niveles de Rs IL-2 no deben ser interpretados en forma aislada ya que en individuos controles hemos conseguido hasta 700 U/ml (valores normales = 477 ± 2). Además, se debe tomar en consideración que la liberación de Rs IL-2 puede ser causada por otros procesos infecciosos virales, parasitarios y en modelos neoplásicos tipo enfermedad de Hodgkin y Linfoma no Hodgkin. Su liberación además podría estar restringida genéticamente como ocurre en los clones de células T murinas.²²

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

1. Los individuos VIH positivos (T) liberan en forma significativa mayor cantidad de receptor soluble que VIH negativo (HSM) y controles.

2. Los niveles de Rs IL-2 no deben ser interpretados en forma aislada, por lo tanto el seguimiento de los pacientes VIH positivos, en cuanto a Rs IL-2 sérico nos aportaría mayores datos en relación a su valor pronóstico.

3. Es necesario determinar la liberación de Rs IL-2, por parte de las células mononucleares a nivel ganglionar y compararlo con lo que ocurre en sangre periférica, así como establecer si el incremento del receptor soluble en suero modula negativamente la expresión de ambas formas del receptor de IL-2 (membrana y soluble).

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. ADAMS, D. H. Wang, L., Hubscher, S. G. and Elías E. Soluble Interleukin-2 Receptors in Serum and Bile o Liver Transplant Recipients. *The Lancet* 4: 469-471, 1989.
2. ANDRADE RONALD. Mecanismo de Inmunoregulación en Tuberculosis. Tesis de Grado U.C.V. Facultad de Medicina, Instituto de Anatomía Patológica. Unidad de Inmunología Clínica, 1987.
3. CDC. Criterios Diagnósticos y Clasificación de la Infección por VIH, adaptado del CDC de Atlanta MMWR. 35:334, 1986.
4. CDC. Revision of the CDC Surveillance. Case Definition for Acquired Immunodeficiency Syndrome. Leads from MMWR *Jama* 258 (9): 1143-1154, 1987.
5. FAUCI, A.S. The Human Immunodeficiencys: Infectivity and Mechanisms of Pathogenesis. *Science*. 239:617-622, 1988.
6. FARRAR W. L. and Ruscetti F. W. Association of Protein Kinase C. Activation with IL-2 Receptor Expression *The Journal of Immunology* 136 (4): 1266-1273, 1986.
7. HAKIMI, Seals C., Anderson L. E. Podlaski F. J., Lin P., Danho W., Jenson J. C. Perkins A., Donadio P. E., Famillett, P. C., Pan Yuching E., Tsien W. H., Chizzonite, R. A., Casabbo L., Nelson D. L. and Cullen B. R. Biochemical and Functional Analysis of Soluble Human Interleukin-2 receptor in rodent cells. *The Journal of Biology Chemistry* 262 (36): 17336-17341, 1987.
8. KLOSTER, B. E. John P. A. Miller L. E. Rubin L. A. Nelson D. L., Dair D. C. and Tomar R. H. Soluble interleukin-2 receptors are elevated in patients with AIDS or at risk of developing AIDS. *Clinical Immunology and Immunopathology*. 45:440-446, 1987.
9. KUO LI-MEU, Rusk C. M. and Robb R. J. Structure Function relationships to the IL-2 receptor system. II Localization of a IL-2 binding - site on high and low affinity receptors. *The Journal of Immunology*. 137 (5): 1544-1551, 1986.
10. MATSUI M., Ariga H., Kakiuchi T., and Narnchi H., Dissociation between the expression of IL-2 Receptor and IL-2 Receptor mRNA in the antigen specific T cell clone stimulated by the specific antigen with B cell APC. *The Journal of Immunology* 139 (2): 373-379, 1987.
11. MENDEZ M., J. F. Estudio de la actividad citotóxica mediada por linfocitos T en pacientes con linfoma. Tesis de Grado U.C.V., Facultad de Medicina, Instituto de Anatomía Patológica, Unidad de Inmunología Clínica, 1987.
12. PRINCE, H. E. and John J. K. Abnormalities of Interleukin-1 receptor expression associated with decreased antigen induced lymphocyte proliferation in patients with AIDS and related disorders. *Clin. Exp. Immunol.* 67: 59-65, 1987.

13. PRINCE H. E. Kermani-arab, V., Fahey, J. L. Depressed interleukin-2 receptor expression in acquired Immune deficiency and lymphadenopathy syndromes. *J. Immunol.* 133: 1313-1317, 1984.
14. PRINCE, H. E.; Klein S., and Williams A. E. Soluble IL-2 receptor levels in serum from donors seropositive for HIV. *The Journal of Immunology* 140: 1139-1141, 1988.
15. REDDY M. M., and Griego M. H. Elevated soluble Interleukin-2 receptor levels in serum of human Immuno Deficiency virus infected populations *AIDS Research and Human Retroviruse* 4: (2): 115, 1988.
16. ROBB R. J. Interleukin-2: The molecule and its function. *Immunology Today.* 5(7): 203-209, 1984.
17. ROBB, R. J. and Kutny R. M. Structure-function relationships for the IL-2 receptor system IV Analysis of the sequence and ligandbinding properties of soluble TAC protein. *The Journal of Immunology.* 139 (3): 855-862, 1987.
18. RUBIN L. A. Jay G., and Nelson D. L. The released interleukin-2 receptor binds interleukin-2 efficiently. *The Journal of Immunology* 137 (12): 3841-3844, 1986.
19. RUBIN, L. A., Kurman C. C. Fritz M. E. Biddison W. E., Boutin B., Yarchoan R. and Nelson D. L. Soluble interleukin-2 receptors are released from activated human lymphoid cells in vitro. *The Journal of Immunology.* 135 (5): 3172-3177, 1985.
20. SMITH K. A. The Biomolecular structure of the interleukin-2 receptor. *Immunology Today.* 9 (2) 36-37, 1988.
21. VUILLIER F., Bianco N. E., Montagnier and Pighiero G. Selective depletion of low-density CD8+, CD16+ Lymphocytes during HIV Infections. *AIDS Research and Human Retroviruses* 4 (2): 121-129, 1988.
22. WAGNER D. K., York-Lolley J., Malek T. R., Berzofsky J. A. and Nelson D. L. Antigen specific murine T. cell clones produce soluble Interleukin-2 receptor on stimulation with specific antigens. *The Journal of Immunology.* 137 (2): 592-596, 1986.
23. WALDMANN, T. A. The structure, function and expression of interleukin-2 receptors on normal and malignant Lymphocytes *Science* 232: 727-723, 1986.