

Los virus RNA inducen estrés oxidativo celular y los antioxidantes reducen la generación de partículas virales, tanto in vitro como in vivo

RNA viruses induce cellular oxidative stress and antioxidants reduce the generation of viral particles, both in vitro and in vivo

Dr. Carlos A. Guerrero F.

Department of Physiological Sciences, Faculty of Medicine, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Capital District, Colombia. caguerrero@unal.edu.co; Carrera 45 No. 26-85. Phone number: 3165000 extensión 15052, 15053 y 15047.

Fecha de recepción: 16/12/20

Fecha de aceptación del artículo: 22/01/2021

RESUMEN

Durante la infección por virus RNA se generan mecanismos oxidativos intracelulares como especies reactivas de oxígeno (ROS) y citocinas prooxidantes. Los virus RNA requieren la presencia de moléculas redox en la membrana celular para realizar los cambios conformacionales necesarios en la unión y penetración a la célula. Además, necesitan inducir estrés oxidativo celular ya que esto permite la expresión de la maquinaria bioquímica necesaria para su traducción utilizando los sitios de entrada de ribosomas internos (IRES). La generación de ROS, como consecuencia de la infección viral o por agentes xenobióticos, estimula la activación de la vía NF- κ B y junto con la actividad oxidativa aumentan la replicación viral. Igualmente, los virus RNA inhiben enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa y factores importantes en las vías anti-inflamatorias como Nrf2, PPAR γ , entre otros. El tratamiento y uso de antioxidantes como agentes terapéuticos en enfermedades virales, tanto en animales como en pacientes humanos, afecta el plegamiento de los virus durante la unión a los receptores y disminuye la generación de viriones por célula, permitiendo de esta manera la producción sostenida de antígenos virales para desarrollar una inmunidad eficiente y equilibrada.

Palabras claves: coronavirus IRES, NF- κ B, ROS, estrés oxidativo, equilibrio redox, PPAR γ .

Abstract

During infection by RNA viruses, intracellular oxidative mechanisms such as reactive oxygen species (ROS) and pro-oxidant cytokines are generated. RNA viruses require the presence of redox molecules in the cell membrane to make the necessary conformational changes for cell attachment and penetration. In addition, they need to induce cellular oxidative stress since this allows the expression of the biochemical machinery necessary for their translation using internal ribosome entry sites (IRES). The generation of ROS, as a consequence of viral infection or by xenobiotic agents, stimulates the activation of the NF- κ B pathway and, together with oxidative activity, increases viral replication. Likewise, RNA viruses inhibit antioxidant enzymes such as superoxide dismutase and important factors in anti-inflammatory pathways such as Nrf2, PPAR γ , among others. The treatment and use of antioxidants as therapeutic agents in viral diseases, both in animals and in human patients, affects the folding of viruses during binding to receptors and decreases the generation of virions per cell, thus allowing the sustained production of viral antigens to develop efficient and balanced immunity.

Key words IRES choranovirus, NF- κ B, ROS, oxidative stress, redox balance, PPAR γ

Introducción

Algunos virus que afectan animales, incluyendo humanos, como chikungunya, dengue, coronavirus (incluyendo SARS-CoV-2) o plantas comparten mecanismos de infección similares (1–10).

Se ha descubierto que la mayoría de los virus RNA inducen estrés oxidativo en la célula hospedera, y que este mecanismo asociado con la respuesta de defensa, puede ser utilizado por el virus para aumentar la replicación y modificar la bioquímica celular para su beneficio (2,3,9,11).

Se sabe que los virus respiratorios inducen enzimas generadoras de ROS, incluyendo nicotinamida adenina dinucleótido fosfato

oxidasas (NADPH oxidasas, Nox) y xantina oxidasa (XO) que también disminuyen los compuestos antioxidantes.

(12). Además, se ha demostrado que las condiciones que alteran el equilibrio redox celular, ya sea por déficit de antioxidantes o aumento de radicales libres, pueden contribuir a la patogenicidad viral (11,13–17).

Por otra parte, se conoce que el estrés oxidativo es una respuesta a la alteración de la homeostasis durante la infección viral (18) y puede ser un mecanismo por el cual los virus provocan daño celular y tisular (19,20).

La señalización canónica de NF- κ B, que regula la respuesta inmune innata, la supervivencia celular y la inflamación, es manipulada por los virus para contrarrestar la respuesta antiviral.

Se ha observado que algunos virus modifican la expresión de NF- κ B para alterar los mecanismos celulares que eliminan la infección, (21).

También se conoce que ROS activan vías de señalización tales como NF- κ B o viceversa (11,22).

Nuestro grupo de investigación ha reportado que durante la infección con rotavirus aumenta la expresión de proteínas celulares como NF- κ B, Cox-2, Hsc70, PDI y PPAR γ (23,24). Cuando las células se tratan con el agonista de PPAR γ , pioglitazona, la expresión de estas proteínas disminuye y hay reducción en la producción de viriones (24).

Igualmente, al interferir con la actividad oxidoreductora aplicando antioxidantes o aplicar antiinflamatorios no esteroideos (AINES) para disminuir la actividad de la vía NF- κ B, se disminuye la infección de rotavirus en la línea celular MA104 (23), en vellosidades aisladas de ratón (24), en ratones ICR (25) y en niños (26).

La activación de NF- κ B favorece la infección del virus del herpes simple (HSV) (27), del virus de Hepatitis C (HCV) (28,29), del poxvirus e inducción de citocinas (30).

El virus de la actual pandemia, SARS-CoV-2, regula positivamente la vía de señalización NF- κ B (31,32). La excesiva respuesta inflamatoria a los virus respiratorios se debe en gran parte a una desregulación en el sistema inmune que se manifiesta como secreción de citocinas proinflamatorias, activada por NF- κ B (2,8).

La relación entre el estrés oxidativo y la infección viral no se conoce en su totalidad (33), al igual que los mecanismos por los cuales sus efectos sobre las funciones celulares conducen a la muerte celular (18).

El propósito de esta revisión es contrastar los resultados de investigaciones realizadas en rotavirus por el grupo de investigación de rotavirus de la Facultad de medicina de la Universidad Nacional de Colombia y de otros grupos, con lo hallado en la literatura, relacionado con la pregunta ¿Por qué los virus RNA requieren inducir estrés oxidativo celular y por qué los antioxidantes reducen la generación de virus, tanto in vitro como in vivo?

1. La traducción de los RNA virales es dependiente de los IRES

La traducción es el proceso por el cual una molécula de RNA mensajero (mRNA) se transforma en una secuencia de aminoácidos (proteínas/enzimas) en el complejo ribosomal. Sin embargo, las células cuando entran en condición de estrés modifican la utilización de los ribosomas en la traducción del mRNA, cambiando el mecanismo dependiente de 5' cap a un mecanismo independiente de 5' cap (34); igualmente, es un mecanismo inicial de autodefensa del hospedero contra la invasión viral. El bloqueo de la traducción 5' cap se observa en la mayoría de las condiciones de estrés celular, incluyendo estrés oxidativo, infección viral, limitación de nutrientes, cambios de temperatura, hipoxia, irradiación ultravioleta, estrés del retículo endoplásmico, entre otros. Para adaptarse a estas condiciones de estrés, tanto la célula como el virus necesitan ajustar su modo de iniciación de la traducción. Muchas infecciones virales desencadenan respuestas de estrés del retículo endoplásmico (RE) de diversas formas dentro de la célula hospedera. Una forma de inhibir la traducción del mRNA es bloqueando la traducción dependiente de 5' cap. Esto ocurre cuando se desfosforilan las proteínas de unión a 4E (4E-BP) al mantenerse unidos eIF4E con 4E-BP. La segunda forma de inhibición de la traducción se debe a la fosforilación de eIF2 α . Hay cuatro quinasas que responden al estrés y pueden afectar la traducción global fosforilando eIF2 α , las cuales son:

inhibidor quinasa regulado por hem (HRI), proteína quinasa RNA (PKR), quinasa del retículo endoplásmico similar a PKR (PERK) y control general no desreprimible-2 (GCN2). Estas quinasas se activan por diferentes tipos de estrés que inducen una vía común de bloqueo de la traducción (35,36). Hay similitudes en las estrategias de control de la traducción que ocurren en células infectadas por virus y en células con estrés no infectadas. Por ejemplo, en condiciones de estrés celular o en infección por virus los sitios de entrada de ribosomas internos (IRES) permiten la traducción de mRNA porque la traducción dependiente de 5' cap, mediada por eIF2 α y por eIF4F, se ve inhibida (34).

Los IRES son elementos reguladores de la traducción de los mRNA que se descubrieron por primera vez en los virus y pueden ser leídos por la bioquímica celular que se expresa en el estrés. Dicha bioquímica puede variar, dependiendo del virus. Otra similitud está en que en células con estrés o infectadas por virus se utilizan fosfatasa para prevenir la acumulación de eIF2 α fosforilado, ya que este detiene la síntesis de proteínas. Igualmente, el factor eIF4G puede ser cortado por proteasas ya sea codificadas por virus (35) o por la célula durante la apoptosis. Por ejemplo, los picornavirus expresan una proteasa que corta el factor de iniciación eIF4G, un componente del complejo de unión de 5' cap, bloqueando el proceso de iniciación dependiente de 5' cap deteniendo la traducción en la célula infectada. Algunos mRNA relacionados con estrés (14,15) de células de mamíferos tienen IRES de

manera similar a como los poseen los RNA virales (37–39). Anteriormente se pensaba que los mRNA de eucariotas no podían ser traducidos por IRES y que el único mecanismo era el proceso dependiente de 5' cap que implica el reclutamiento de las subunidades de inicio y la 40 S en el extremo 5' del mRNA. Estos elementos IRES celulares están ubicados en el extremo 5' UTR (untranslated region) de los mRNA eucariotas de genes involucrados en la supervivencia al estrés celular y otros procesos críticos para la supervivencia. Se piensa que los IRES permiten la traducción de mRNA celular cuando se bloquea el proceso dependiente del 5' cap, como ocurre durante la mitosis (fase G2-M) y en condiciones de estrés como el choque térmico o la infección viral (40,41).

Por ejemplo, durante la apoptosis, se expresa el mRNA del Inhibidor de la apoptosis ligado al cromosoma X (XIAP) que contiene IRES (42), el factor activador de peptidasa apoptótica 1 (APAF1) y p53 (35,43–45). También se han descubierto IRES en el protooncogén c-myc (45), en los factores de crecimiento de fibroblastos (FGF), en los factores de crecimiento del endotelio vascular (VEGF) y en genes reguladores maestros de las respuestas celulares (46,47). Los IRES relacionados con p53 son inducidos cuando hay estrés por agentes genotóxicos o citotóxicos (35) al igual que los IRES de los mRNA de proteínas de choque térmico, como la proteína BiP, proteína de choque térmico 70 (Hsp70), Hsp22 y Hsp27 (40).

Los virus RNA o DNA reclutan la maquinaria celular para traducir los mRNA virales. Los virus RNA requieren inducir estrés oxidativo para generar cambios en la homeostasis redox para que se exprese la maquinaria bioquímica necesaria para traducir su RNA y sintetizar las proteínas virales. Estos virus utilizan los IRES para mantener la traducción viral activa cuando se inhibe la traducción de la célula hospedera.

Se sabe que en el virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1) el estrés oxidativo es causado durante la infección lo que estimula la actividad IRES en las células infectadas (38). Diversos virus inducen estrés oxidativo para facilitar su replicación dentro de la célula (3,29,36,48,49). De esta manera el estrés oxidativo inducido por la infección activa varias vías de señalización antivirales críticas como el receptor tipo Toll (TLR) y las vías del interferón (IFN (50–52).

Se ha demostrado que el aumento del estrés oxidativo, en una célula hospedera, contribuye a la patogénesis viral, lo que resulta en una inducción masiva de la muerte celular (53,54).

Básicamente, el desequilibrio entre la producción de ROS y el sistema de defensa antioxidante está en relación directa con los mecanismos patogénicos para la respuesta inflamatoria y la lesión tisular por una infección viral (55,56).

El aumento del estrés oxidativo en parte es consecuencia de la activación de la vía NF- κ B y del bloqueo de la traducción normal de proteínas celulares de manera directa por proteínas virales o por interferones (55). Estos mecanismos de inhibición de la traducción del huésped son diversos y pueden ser iniciados tanto por el virus como por la propia célula, dependiendo del tipo de virus. Aunque inicialmente los IRES se descubrieron en los picornavirus, poliovirus (PV) y virus de la encefalomiocarditis (EMCV) (57,58), a la fecha se han reportado 60 virus de humanos y animales y 8 de plantas que contienen elementos IRES (10,59). Muchos virus tienen IRES en su RNA como los *Picornaviridae*, *Flaviviridae*, *Dicistroviridae*, *Retroviridae* (57,58,60–64) y *coronaviridae* (incluyendo SARS-CoV-2) (18).

Los IRES de RNA virales tienen conformaciones complejas y solo están activos cuando se unen con proteínas específicas llamadas factores de activación trans de IRES (ITAF). Los ITAF no funcionan en la traducción dependiente de 5'cap y son todos de origen celular, no viral; son importantes, ya que el IRES debe funcionar antes de que se pueda sintetizar cualquier proteína viral. Es decir, el virus desde que ingresa a la célula debe inducir el estrés oxidativo para activar la maquinaria bioquímica para detener la traducción dependiente de 5'cap y activar los ITAF. Tanto en células con estrés, como en infecciones virales, los IRES más los ITAF requeridos y los factores de traducción canónicos funcionan juntos, como un complejo. Se cree que muchos de

los ITAF en su interacción con los IRES tienen funciones semejantes, tanto para mRNA celulares como para mRNA virales, durante la traducción independiente de 5'cap (63–65). Esto sugiere que los mismos ITAF pueden controlar los IRES virales y celulares, probablemente porque actúan con un mecanismo similar de interacción con los IRES celulares o virales, o el mismo ITAF puede presentar mecanismos diferentes que le permitan interactuar con IRES virales o celulares. Cuando se analizan los IRES de origen celular o viral utilizando vectores con el factor de crecimiento de fibroblastos 2 (FGF-2 IRES), estos IRES son activos en la mayoría de los tipos de células humanas y no humanas transfectadas de forma transitoria. *In vivo*, en ratones, la actividad de FGF-2 IRES es baja en la mayoría de los órganos del adulto, pero excepcionalmente alta en el cerebro. Esta variación espacio-temporal no se observa en IRES de origen viral indicando que hay especificidad tisular de los IRES celulares pero no de los IRES virales (65). Diferentes IRES celulares pueden ser regulados por un mismo ITAF y un IRES determinado puede ser regulado positiva o negativamente por varios ITAF. Sin estrés celular, la actividad de IRES es inhibida por ITAF negativos, mientras que en estrés aumentan los ITAF positivos que se unen al IRES, lo que facilita el desenrollamiento de la estructura secundaria del RNA y mejora la actividad del IRES (66).

Los IRES se encuentran comúnmente en el 5' UTR de los virus de RNA y permiten la traducción de los RNA de manera

independiente de 5' cap. Sin embargo, virus de ADN, incluido el virus simio 40 (SV40) y herpesvirus, también contienen mRNA policistrónicos con IRES (67–69). El IRES viral de DNA mejor estudiado es el del virus del herpes del sarcoma de Kaposi (KSHV) (70) y el virus de la enfermedad de Marek (71).

Durante el estrés celular sin infección viral, o en el estrés por la infección, los mRNA celulares que contienen IRES, que son responsables de la supervivencia/crecimiento celular, como BiP, Bcl-2, VEGF, entre otros, se traducen por el mecanismo dependiente de IRES usando ITAF (63–65). Esto permite que las células respondan rápidamente a los cambios transitorios y retrasen la apoptosis. Si se elimina la condición de estrés, las células reanudan la actividad normal.

Sin embargo, si el estrés se prolonga o es severo, como en la infección viral persistente, los genes pro-muerte (Apaf-1, DAP5, CHOP, p53, etc.), también se traducen selectivamente por el mismo mecanismo de IRES, lo que le permite a las células ajustar su respuesta al estrés celular. Si las condiciones de estrés no paran y no se restaura la homeostasis celular, estas proteínas inducen la apoptosis (37). Otra evidencia que indica que los virus requieren inducir estrés oxidativo para tener éxito en el proceso infeccioso es el aumento de la actividad del IRES cuando las células se tratan con agentes que inducen estrés oxidativo (2,37,38). Los virus *Flaviviridae* como el

virus de la hepatitis C (HCV), el virus del dengue (DENV), el virus del Zika (ZIKV), el virus de la encefalitis japonesa (JEV), el virus del Nilo occidental (WNV) y el virus de la encefalitis transmitida por garrapatas (TBEV) inducen y mejoran su capacidad infectiva con el estrés oxidativo y a la vez el estrés oxidativo inducido por los virus explica su patogénesis (2).

La mayoría de virus del género flavivirus poseen en el 5' UTR un 5' cap metilado (cap de tipo I (m7GpppNmN), mientras que los virus de otros géneros poseen IRES. Sin embargo, se sabe que HCV utiliza IRES en la traducción, lo que permite la traducción selectiva de genes virales en condiciones en las que la síntesis de proteínas global del hospedador se ha disminuido (64). La traducción del HCV aumenta al tratar las células con H₂O₂, lo que sugiere que el HCV es capaz de adaptarse y utilizar la respuesta anti-viral del huésped para facilitar su propia traducción, permitiendo que el virus realice el ciclo infeccioso completo en condiciones de estrés oxidativo, manteniendo una infectividad crónica (72). Adicionalmente, nuestros resultados (24) y de otros autores (7,73) indican que la infección viral por rotavirus en las células intestinales aumenta la generación de ROS. También se observa un aumento en la formación de viriones cuando las células infectadas son tratadas con fármacos generadores de ROS como H₂O₂, fármacos utilizados en quimioterapia (cisplatino, doxorubicina), metronidazol o nitrofurantoina (unpublished data).

2. Activación de la vía proinflamatoria NF- κ B e inhibición de vías antiinflamatorias como PPAR

Con rotavirus, al igual que en coronavirus (8,11), la infección aumenta el estrés oxidativo y se induce un desbalance en los niveles de glutatión reducido y oxidado, lo cual indica una alteración temprana del estado redox intracelular (7). Nuestro grupo de investigación también ha encontrado que aumentar el estrés oxidativo en la célula e infectarla se aumenta el porcentaje de infección y el número de viriones. Por ejemplo, en un modelo *in vitro* cuando las células MA104 las tratamos durante 1 hora con los agentes 2-3-Dimetoxi-1,4-naftoquinona (DMNQ) y homocisteína, que aumentan los niveles de ROS y la activación de la vía NF- κ B, y luego realizamos la infección con rotavirus RRV, los niveles de ROS aumentan entre 2,1 y 2,4 veces y los niveles de infección aumentan entre un 20% y 30% respectivamente (unpublished data). Esto sugiere que un aumento en el estrés oxidativo y la actividad de la vía NF- κ B se asocia con un aumento del porcentaje de infección viral.

Dentro de una célula hospedera un virus que necesita expresar diferentes proteínas tanto estructurales y como no estructurales para replicar el genoma viral y ensamblar un nuevo virión. Se ha demostrado que diferentes proteínas virales están relacionadas con la producción de varias ROS (8,9,29,52).

El estrés oxidativo inducido por el virus juega un papel central no solo en la finalización exitosa del ciclo de vida viral, sino también en la patogénesis viral (9,74–76). En el virus de la influenza, entre otros virus respiratorios, y el virus Sindbis (un alfavirus con genoma RNA de cadena positiva con envoltura) la actividad de la vía NF- κ B contribuye a la replicación y propagación del virus (77–82). El aumento del estrés oxidativo como el aumento de la actividad de la vía NF- κ B inducen el aumento de la infección. Lo anterior refuerza la hipótesis de que el desbalance hacia un estado oxidado promueve un ambiente celular propicio para el éxito de la infección viral, como se ha observado en nuestros resultados con rotavirus (24).

Se ha propuesto que en pacientes con SARS-CoV-2 el estrés oxidativo está asociado con la amplificación y mantenimiento de la tormenta de citocinas, coagulopatía e hipoxia celular (83). El proceso inflamatorio es un elemento importante en la tormenta de citocinas (84) y los estudios indican que ROS activa el factor pro-inflamatorio denominado receptor P3 similar a NOD (NLRP3).

La activación del estrés oxidativo por la infección viral activa las vías del receptor de tipo Toll y del interferón (IFN) como un mecanismo para combatir la infección viral (54,85). NF- κ B, a su vez, es activado por ROS, por lo que directa o indirectamente, el proceso inflamatorio aumenta por ROS (86,87).

Se han detectado niveles elevados de productos de oxidación de esteroides, no solo durante la infección sino también hasta tres meses después de no tener la infección viral.

A pesar de la función antiviral de las citocinas en las infecciones respiratorias, su producción excesiva durante la tormenta de citocinas es más dañina para los tejidos pulmonares que los propios virus. Por otra parte, la muerte y lisis celular inducida por ROS puede favorecer la liberación y diseminación de viriones y así estimular la replicación de aquellos virus respiratorios con un ciclo de vida lítico. Por lo tanto, se han evaluado varios agentes para controlar no solo la infección y la propagación viral, sino también la inflamación asociada a la infección. Se ha prestado mucha atención a los antioxidantes debido a la correlación entre la gravedad de la lesión tisular y los marcadores de estrés oxidativo en el pulmón y la sangre de pacientes infectados, como por ejemplo, con el virus sincitial respiratorio humano (HRSV) (12).

Se conoce que la N-acetilcisteína (NAC) disminuye la carga viral al aumentar el estado redox celular maximizando la síntesis de glutatión y, por lo tanto, disminuyendo potencialmente los efectos del estrés oxidativo inducido por virus y la muerte celular (88).

También se ha demostrado que NAC inhibe el proceso inflamatorio disminuyendo NLRP3 (IL1 β e IL18) *in vitro* y reduce el TNF- α plasmático, citocinas proinflamatorias (IL-8, CXCL10, CCL5 e IL-6) en ensayos clínicos en humanos (89).

El estrés oxidativo generado por la infección viral juega un papel clave en la activación de la inmunidad innata a través de la generación de citocinas al activarse la vía NF- κ B (90,91). El virus respiratorio sincitial (VSR) induce la producción de ROS que, a su vez, induce la expresión de citocinas proinflamatorias y la defensa inmune innata (36,92). Para controlar los niveles de las ROS, los virus han evolucionado la capacidad de manipular las vías antiinflamatorias, como por ejemplo la vía Nrf2 (74,93). Nrf2 es una proteína que detecta los niveles de estrés oxidativo y regula los genes involucrados en la producción de enzimas antioxidantes y así como los genes de respuesta al estrés.

Durante la infección viral se inhibe la respuesta antioxidante celular aumentando la degradación de la proteína Nrf2, lo cual se correlaciona con un aumento de antígenos virales (52). Por ejemplo, el VSR aumenta la peroxidación de lípidos y disminuye el GSH en las células epiteliales alveolares tipo II humanas y en las células epiteliales de las vías respiratorias pequeñas y anula la activación de la vía

Nrf2, causando una reducción en la expresión de los genes diana *Nrf2*, incluida la hemoxigenasa-1 (*HO-1*), superóxido dismutasa 1 (*SOD1*), superóxido dismutasa 3 (*SOD3*), glutatión S-transferasa (*GST*), catalasa (*CAT*) y glutatión peroxidasa (*GPx*) (75). Por otro lado, se ha demostrado que una alteración en el equilibrio redox de una célula hospedera contribuye a la patogénesis viral, lo que resulta en una inducción masiva de muerte celular provocada por el estrés oxidativo (53). Sin embargo, también hay estudios donde se encontraron ejemplos de modulación positiva de la vía Nrf2 por estrés oxidativo inducido por virus para evitar una muerte temprana de la célula (93).

El virus de la influenza induce estrés oxidativo, pero al mismo tiempo facilita la translocación nuclear de Nrf2 con la expresión subsiguiente de HO-1, una enzima protectora contra la lesión oxidativa en las células epiteliales alveolares humanas (94).

Este virus finalmente induce apoptosis y citotoxicidad en las células epiteliales alveolares junto con un aumento de la expresión de caspasa 1 y 3 y una citocina proinflamatoria, IL-8 (94). Estos hallazgos apoyan la idea de que el estrés oxidativo está involucrado de manera importante en el éxito o el fracaso de la respuesta celular a la infección por virus.

De otro lado, los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPAR) juegan un papel importante en el antagonismo de las vías inflamatorias centrales como NFκB, AP1 y STAT (95).

Se conoce que PPARα y PPARγ regulan la respuesta inflamatoria *in vivo* e *in vitro* ya que inhiben la activación de NFκB. En la infección por rotavirus RRV hemos observado que una disminución de la expresión del elemento de respuesta PPRE en células MA104 infectadas, con respecto a las no infectadas sugiriendo que RRV inhibe la vía antiinflamatoria disminuyendo la actividad transcripcional de PPRE (unpublished data).

El virus de la influenza A (IAV), regula negativamente PPARγ después de la infección de macrófagos alveolares (AM), a través de la señalización dependiente del interferón de tipo I (IFN). Igualmente, la expresión de PPARγ en AM suprime la respuesta antiviral e inflamatoria exagerada de AM después de infecciones por IAV y virus sincitial respiratorio (RSV). La deficiencia de PPARγ en células mieloides resulta en una mayor morbilidad del huésped y aumento de la inflamación pulmonar, lo que sugiere que el PPARγ de macrófagos es vital para restringir el desarrollo de IAV y RSV en el paciente (96). Además, se ha observado que el tratamiento con rosiglitazona (RGZ) induce una disminución significativa de la

infección viral con VIH-1 en macrófagos; la estimulación de PPAR γ con RGZ inhibe la replicación del virus modulando la activación de NF- κ B, lo que conduce a la regulación negativa de la actividad promotora de la repetición terminal larga (LTR) del VIH-1 y la supresión de la replicación del VIH-1 (97).

Adicionalmente, se ha encontrado disminución de la carga viral de la influenza y disminución de la producción de citocinas y quimiocinas en los ratones tratados con rosiglitazona infectados por la influenza en comparación con los no infectados (98). Los agonistas de PPAR γ tienen efectos positivos en la supresión de la respuesta inflamatoria durante la infección por el virus sincitial respiratorio (RSV) (99). Todo esto indica que la activación de PPAR γ es una estrategia terapéutica eficaz para contrastar la tormenta de citocinas y prevenir los efectos inflamatorios que siguen a las infecciones por coronavirus o por otros virus RNA.

Los agonistas de PPAR γ , tienen propiedades antiinflamatorias que los convierten en candidatos prometedores para tratar la inflamación en enfermedades virales graves (100). Agonistas de PPAR γ naturales como 15d-PGJ2 y sintéticos como las tiazolidinedionas regulan significativamente a la baja la expresión de ICAM-1 inducida por virus sincitial respiratorio (RSV) en células A549 y NHBE (99).

Diferentes investigaciones, han reportado que la activación de PPAR γ por tiazolidinedionas (TZD) como rosiglitazona (RGZ), pioglitazona (PGZ) o por flavonoides, fibratos (fenofibrato, gemfibrozilo) (101) interfiere con la cascada de señalización de NF- κ B, lo que lleva a una disminución en la transcripción de algunos genes proinflamatorios dependientes de NF- κ B y a la inhibición de infecciones virales o a la modificación del proceso inflamatorio causado por la infección viral. Cuando la vía de NF- κ B se activa, hay expresión de *COX-2* y actividad proinflamatoria; los ligandos de PPAR γ ejercen sus propiedades quimioproliféricas evitando la traslocación al núcleo de p65/p50 y de esta manera inhibiendo la acción de NF- κ B. Parte de la regulación antiinflamatoria de PPAR está mediada porque PPAR interfiere negativamente los factores nucleares como NF- κ B, AP-1 y C/EBP, que regulan la inmunidad innata y adaptativa (102). Los ligandos de PPAR γ inhiben la expresión de genes inflamatorios como la interleucina-1 β (IL-1 β) y el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) (103). PPAR γ , al igual que PPAR α y PPAR β , se expresa en una amplia variedad de células en las que regula la transcripción de distintos genes a través de la heterodimerización con los receptores de retinoides X (RXR) (104).

Por esta razón, la vitamina A (holo-trans-retinol) también ejerce efectos antiinflamatorios.

Los pacientes con infección por VIH presentan una expresión disminuida del gen PPAR γ y de las proteínas en los macrófagos alveolares, lo que se correlaciona con un aumento del estrés oxidativo (105).

El tratamiento con un agonista de PPAR γ aumenta los niveles de PPAR γ , mejora el índice fagocítico de los macrófagos y disminuye el estrés oxidativo (106), respaldando el papel potencial de los agonistas de PPAR γ para el tratamiento en las infecciones virales.

La infección por rotavirus induce una respuesta inflamatoria en la célula hospedera acompañada de un aumento de la expresión o activación de algunas moléculas celulares, incluidas ROS, NF- κ B y COX-2 (137).

Nuestro grupo de investigación ha reportado que la estimulación con agonistas de PPAR γ (TZD, RGZ, PGZ, DHA y ALA), ácido retinoico todo trans (ATRA) y el tratamiento con N-acetilcisteína (NAC) interfieren con la infección por rotavirus, como ha sido reportado para otras infecciones virales (11,23–26).

La acumulación de las proteínas celulares proinflamatorias y el aumento de ROS, inducidos por la infección de rotavirus, se reduce con el tratamiento con pioglitazona, produciendo también una

reducción concomitante del rendimiento del número de viriones infecciosos, sugiriendo que PPAR γ inhibe a NF- κ B (107,108).

Los rotavirus, como muchos otros virus RNA, activan la vía inflamatoria, aumentando la expresión de NF- κ B e inhibiendo las vías antiinflamatorias como PPAR (11,24).

Nuestro grupo de investigación ha descubierto que durante la infección por rotavirus se fosforila PPAR γ y no se trasloca al núcleo y de esta manera se inactiva esta vía antiinflamatoria (unpublished data).

La fosforilación es la modificación postraduccional más importante que afecta la actividad de PPAR γ . La fosforilación de PPAR γ por MAPK, incluidas p38MAPK, la quinasa N-terminal Jun (JNK) y la quinasa regulada por señal extracelular (ERK) causa la inhibición de la transactivación de la proteína, tanto dependiente como independiente del ligando.

También se ha demostrado que AMPK fosforila e inhibe la actividad de PPAR γ (109).

3. ¿Por qué los antioxidantes reducen la generación de virus, tanto *in vitro* como *in vivo*?

3.1. Disminución de ROS e inhibición de la vía proinflamatoria NF- κ B

Nuestro grupo de investigación ha reportado que la infección de rotavirus (11,23–26), como la de otros virus (89,110–113), disminuye significativamente con antiinflamatorios no esteroideos (AINES, ibuprofeno, diclofenaco), con el antioxidante NAC, agonistas de PPAR γ (rosiglitazona y pioglitazona), ácidos grasos poliinsaturados (DHA), el ácido trans-retinoico (vitamina A), ácido ascórbico, curcumina, tanto *in vitro*, como *in vivo*, debido a su efecto como inhibidores de la vía NF- κ B. Al usar estos compuestos, se ha observado de forma general una disminución en la infección por rotavirus con una disminución en los niveles de expresión de NF- κ B, PDI, Hsc70, PPAR γ , COX-2 y ROS, lo cual reafirma la importancia de un estado inflamatorio en la infección de rotavirus, como ha sido reportado para otros virus (3,13,14,83,114), sugiriendo que el efecto antiviral de estas sustancias está asociado con la inhibición de estas vías.

Puesto que el estrés oxidativo es el vínculo de todos los mecanismos conocidos para la infección viral, incluyendo SARS-CoV-2, el uso de antioxidantes, como NACy glutatión (GSH), donantes del grupo SH, puede tener un efecto positivo en la recuperación de pacientes con infecciones

virales. Otros compuestos como la vitamina E, vitaminas C, D y selenio, agentes quelantes que forman complejos con el hierro (deferroxamina), inhibidores de NF- κ B (AINES, dexametasona, curcumina, gingerol, etc), polifenoles, activadores de Nrf2 (curcumina, resveratrol) y el uso de inhibidores de citocinas proinflamatorias específicas y anticoagulantes (8,9,31,52,83,88,115–117) también pueden ser utilizados en el manejo de infecciones virales. Se ha encontrado que fármacos inhibidores de NF- κ B, como éster fenetílico del ácido cafeico (CAPE), Bay11-7082 y partenolida que inhiben la activación de NF- κ B reducen la inflamación por SARS-CoV-2 en ratones (118).

Los triterpenoides sintéticos (oltipraz, hidroxianisol butilado), el sulforafano presente en la familia de la col (brócoli, col de Bruselas, col, coliflor, y col rizada brocoli), la curcumina presente en la curcuma, la silibinina, principal constituyente activo de la silimarina (*Silybum marianum* o cardo marino), el resveratrol (presente en el vino tinto, la piel de la uva roja, las moras) ejercen son antioxidantes que activan Nrf2 e inhiben las vías del NF- κ B (52,119–122). La acción de estos agentes regulan a la baja las citocinas proinflamatorias como la interleucina (IL)-1, IL-6, IL -8 y factor de necrosis tumoral (TNF- α) (123,124).

Los resultados obtenidos en estos estudios sugieren que disminuir el estrés oxidativo es una estrategia viable en el manejo de las

infecciones virales. Al modular las vías sensibles redox, la respuesta inmune puede regularse y controlar la infección viral, aspecto que se ha estudiado en el contexto de una amplia variedad de virus, incluido el SARS-CoV-2 (114,125).

El glutatión (GSH) es el principal agente antioxidante en los mamíferos y es la defensa antioxidante más importante en los pulmones (126). Normalmente, cuando el equilibrio entre GSH/GSSG se ve interrumpido por un aumento de ROS, un entorno más oxidativo oxida las proteínas que controlan la activación y localización de los factores de transcripción, como KEAP-1, que regula Nrf2, e I κ B, que regula NF- κ B, activando la vía antiinflamatoria e inactivando la inflamatoria (127).

De esta manera, la célula controla el estrés oxidativo, sin embargo, en las infecciones virales, KEAP-1 se mantiene unida a Nrf2, causando su degradación vía ubiquitinación en el proteasoma, o degradándola por vía no canónica independientes de KEAP-1 (128). Las infecciones por coronavirus conducen a alteraciones del equilibrio redox en las células infectadas a través de la modulación de la biosíntesis de NAD⁺. Por tanto, las moléculas donantes del grupo SH, los activadores de Nrf2 y los inhibidores de NF- κ B, son opciones terapéuticas potenciales para la infección por virus RNA, incluido SARS-CoV-2. Se ha informado que este enfoque terapéutico revierte la sintomatología severa por

diferentes virus y por SARS-CoV-2 (129,130). Como se ha mencionado, los virus RNA necesitan la vía NF- κ B activa dentro de las células huésped para poder replicarse y SARS-CoV-2 no es la excepción, por lo tanto, los fármacos que inhiben la activación de NF- κ B reducen potencialmente la replicación viral. Se ha demostrado que NAC inhibe la vía NF- κ B, así como la replicación de los virus de la influenza humana (cepa H5N1, Vietnam / VN1203) en células epiteliales de pulmón humano de una manera dependiente de la dosis (5 a 15 mM) (113,117,131,132). Además, también se ha demostrado que NAC inhibe la replicación de virus, como el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (133) y el virus respiratorio sincitial (RSV) (113) y SARS-CoV-2 (116,134). En el SARS-Cov-2, se requiere la proteasa principal (Mpro) para la replicación viral, se ha sugerido que NAC puede unirse a Cys-145, un sitio activo de Mpro, inhibiendo su actividad proteasa, interfiriendo con la entrada del virus a la célula y con la replicación viral (116). Por lo tanto, NAC podría servir como un fármaco de primera línea específicamente para infecciones virales como la causada por el SARS-Cov-2 (134). Se ha demostrado que NAC puede cambiar el equilibrio redox hacia un estado reducido al reponer el glutatión reducido (GSH). Igualmente, suprime la activación de NF- κ B a concentraciones de 10 mM o más, lo que resulta en la modulación de la producción de citocinas y señales quimiotácticas (135), convirtiendo a NAC en una sustancia importante para tratar infecciones virales, incluyendo SARS-CoV-2 (117,132,136,137).

La infección por SARS-Cov-2 desencadena la producción de ROS, que induce la estabilización del factor 1α inducible por hipoxia (HIF- 1α) y la acción de este factor inhibe la respuesta de las células T y reduce la supervivencia de las células epiteliales (138). Igualmente, las células infectadas por SARS-CoV-2 adaptan su metabolismo tras la infección y se vuelven altamente glucolíticas, lo que facilita la replicación del SARS-CoV-2, al administrar antioxidantes como NAC se reduce ROS y disminuye la glucólisis (138).

Adicionalmente, durante el envejecimiento hay estrés oxidativo, lo cual induce un nivel crónico de baja inflamación, asociado con la producción de citocinas inflamatorias. Esta condición aumenta la gravedad de las infecciones virales en esta población. El aumento de la oxidación celular con el envejecimiento y la enfermedad es la explicación más probable del aumento de la vulnerabilidad de los ancianos y las personas con comorbilidades y problemas de salud subyacentes a las infecciones virales, incluida la causada por SARS-CoV-2. De manera similar, todos los virus RNA respiratorios inducen la producción de ROS mediada por Nox2 en endosomas de macrófagos alveolares.

A su vez, el reclutamiento de neutrófilos y monocitos del torrente sanguíneo al sitio de infección puede contribuir significativamente a un aumento colateral en la producción de ROS durante la infección (12).

3.2. Alteración de la entrada y del plegamiento de los virus

Nuestro grupo de investigación ha reportado que la proteína de membrana celular disulfuro isomerasa (PDI), rica en residuos de cisteína (Cys) interacciona con rotavirus y esta interacción disminuye al tratamiento con agentes que bloquean el intercambio tiol-disulfuro o alteran el estado redox celular (DTNB, Bacitracina, N-etilmaleimido y N-acetilcisteína) (11,23–26,139).

Encontramos que debido a la presencia de los inhibidores de intercambio tiol/disulfuro se reduce la interacción de PDI con partículas de triple capa (TLP) de rotavirus o con sus proteínas estructurales. Las interacciones de las TLPs con fracciones enriquecidas en la membrana celular de vellosidades intestinales de ratón, producen reordenamientos en los puentes disulfuro de las proteínas estructurales del rotavirus.

Esto sugiere que PDI interactúa con los viriones de rotavirus a través de reacciones redox facilitando la entrada de rotavirus en la célula huésped, apoyando la idea de que PDI interacciona con rotavirus y participa en los mecanismos redox que el rotavirus requiere para entrar a la célula (140). La proteína Spike (S) del SARS-CoV-2, al igual que en muchos coronavirus relacionados con el SARS, así como el receptor celular de este virus, la enzima convertidora de la angiotensina 2 (ECA2),

son ricas en residuos de cisteína y forman enlaces disulfuro intramoleculares. A partir de simulaciones de dinámica molecular en SARS CoV-2, se ha observado que en la unión del dominio Spike (RBD) al receptor ECA2, cuando se reducen los cuatro enlaces disulfuro del dominio, hay una mayor flexibilidad del dominio. Esto ocurre especialmente en el residuo 456-490 que interactúa con el receptor de células ECA2 (141). Los enlaces disulfuro en la proteína ECA2 tienen potencial actividad redox, lo que facilita la interacción primaria entre el receptor y la proteína S.

Los animales resistentes a la infección carecen de la capacidad de oxidar o reducir por tener mutado una de las cisteínas en las secuencias de ECA2 (Cys133-Cys141), apoyando la hipótesis redox en la interacción virus-ECA2. Adicionalmente, la ECA2 es un conocido regulador del estrés oxidativo; la sobreexpresión de ECA2 previene el aumento inducido por angiotensina II en la expresión de ROS y NADPH oxidasa en el endotelio (115,142). NAC puede bloquear la actividad de ECA2, al reducir los disulfuros lo que dificultaría la penetración del SARS-CoV-2 en las células diana (142) de manera similar a como NAC interfiere con la unión de rotavirus a PDI de membrana (140) debido a que interfiere con el estado redox.

Los reportes de nuestro grupo de investigación con rotavirus, sugieren que la PDI, e incluso otras tiorredoxinas

relacionadas o la integrina $\alpha\beta3$, son candidatos potenciales para realizar estas reacciones, ya que los anticuerpos anti-PDI y los inhibidores del intercambio de tiol-disulfuro pueden reducir significativamente la interacción PDI-TLP y también la infección por rotavirus (139).

Es inusual que los virus utilicen una sola molécula receptora; generalmente utilizan varias, ubicadas en diferentes órganos, que cumplen la misma función: unión, cambios conformacionales de las partículas virales, e ingreso del virus dentro de la célula. Nuestro grupo de investigación ha planteado que los rotavirus parecen haber evolucionado para entrar en la célula diana utilizando diferentes moléculas de superficie celular (11): (I) Moléculas de unión representadas por ácido siálico y algunas integrinas; (II) Moléculas acompañantes que incluyen Hsc70 y otras proteínas de choque térmico; (III) Moléculas con función redox tales como PDI, Erp57 y otras tiorredoxinas relacionadas y (IV) Moléculas implicadas en el proceso de endocitosis u otros mecanismos alternos, estas últimas pueden formar parte de los eventos I-III.

La mayor limitante en el ingreso de un virus a la célula hospedera es hallar el conjunto de moléculas que le permitan infectar, en especial cuando está en el tránsito de colonizar una nueva especie. En este caso se requiere una gran carga viral para infectar individuos de especies no susceptibles y baja carga viral cuando

adquiere las mutaciones que le permiten alcanzar, con alta afinidad, los receptores que le facilitan la infección. Las moléculas receptoras que ejecutan el mecanismo de entrada pueden diferir parcial o totalmente dependiendo de la especie, línea celular y cepa viral (11).

El uso de receptores y el tropismo de los virus estarían determinados por la abundancia relativa y la proximidad física de los receptores en la superficie de la célula huésped.

Las proteínas estructurales de los virus, implicadas en los primeros pasos del ciclo infeccioso, son sustratos de las moléculas de la superficie celular que tienen actividades oxidorreductasa, tiol isomerasa y chaperonas que serían responsables de los cambios conformacionales que estas proteínas de interacción viral necesitan para asegurar la internalización.

3.3. Disminución en la producción de viriones por célula infectada

El estrés oxidativo intracelular contribuye al plegamiento de las proteínas virales, porque éstas requieren ser oxidadas para formar puentes de azufre, un evento necesario para ensamblar viriones maduros e infecciosos (19,20,33). Los virus RNA inducen estrés oxidativo y al tratar las células con antioxidantes, se genera un ambiente no propicio para la replicación viral y por tanto se disminuye el número de viriones por célula infectada (1,24,132), dándoles tiempo al organismo para reaccionar y controlar la infección.

De todos los antioxidantes conocidos el más antiguo y estudiado es NAC, se conoce la farmacocinética y las dosis mínimas, máximas y tóxicas. La dosis letal 50, (DL50) oral (rata): 5050 mg/kg; DL50 oral (ratón): 4400 mg/kg; DL50 intraperitoneal (ratón): 400 mg/kg (consultar Número RTECS: HA1660000).

Aunque no se dispone de datos para humanos, se ha reportado hasta 150 mg/kg de peso vía endovenosa para envenenamiento con acetaminofén, sin reacciones adversas.

La tasa de infusión final de NAC puede ser de 12,5 mg a 18.75 mg/kg/h dependiendo de la ingesta de acetaminofén; o vía oral, con ingestas de 32 g/día de NAC (143). Por esta razón, NAC junto con muchos otros compuestos que activan la vía anti-inflamatoria de PPAR (fibratos, Vitamina A, DHA) y con antioxidantes reconocidos como vitamina D, vitamina E, vitamina C y AINES pueden usarse en pacientes infectados para disminuir el número de viriones producidos por célula.

Las cantidades usadas deben ser acordes con la sintomatología, según el criterio médico. Baja cantidad cuando los síntomas son leves, moderada cuando son síntomas medios y altas cuando los síntomas son fuertes o los pacientes tienen comorbilidades. Si los virus RNA, incluyendo SARS-CoV-2, estimulan vías pro-inflamatorias como NF- κ B y oxidantes como ROS e inhiben la anti-inflamatoria como PPAR, lo ideal es utilizar fármaco que también actúen en los tres sitios.

Es improbable que un solo fármaco sea capaz de inhibir la infección aguda puesto que los virus RNA, por diversos mecanismos, actúan en las tres vías mencionadas. En nuestro modelo con rotavirus, descubrimos que los diferentes fármacos analizados tienen un orden jerárquico en la fuerza de acción para disminuir la capacidad infectiva, así: el más potente es el NAC, luego los inhibidores de NF- κ B y los agonistas de PPAR y por último las vitaminas (23)(25,26).

Un esquema ideal para el manejo de virus, incluido el SARS-CoV-2, sería usar medicamentos que actúen en los tres eventos, teniendo como base NAC, junto con los demás compuestos. Con este esquema se busca mantener baja la generación de viriones por célula y permitir la producción sostenida de antígenos virales para desarrollar una inmunidad eficiente y equilibrada, de forma similar a lo que se busca en la vacunación con el virus completo inactivo o atenuado.

Conclusiones

En la membrana celular los virus RNA requieren moléculas redox que le permitan realizar los cambios conformacionales en las proteínas virales necesarios para la unión y penetración a la célula. Necesitan inducir estrés oxidativo celular porque al generar estrés celular se expresa la maquinaria bioquímica necesaria para la traducción de los RNA virales utilizando IRES. Además, se generan citocinas prooxidantes como el factor de necrosis tumoral y otras citocinas pro-inflamatorias.

Los virus RNA inhiben enzimas antioxidantes tales como superóxido dismutasa, factores importantes en las vías anti-inflamatorias como Nrf2, PPAR γ y otras ROS estimula la activación de la vía NF- κ B y ambos aumentan la replicación viral.

El tratamiento y uso de antioxidantes que actúen en las tres vías son potenciales agentes terapéuticos en enfermedades RNA virales, incluyendo SARS-CoV-2. Su uso, tanto en animales como de pacientes humanos, conduce a disminuir la generación de viriones por célula permitiendo la producción sostenida de antígenos virales para desarrollar una inmunidad eficiente y equilibrada, de forma similar a lo que se busca en la vacunación con el virus completo inactivo o atenuado.

Referencias

1. Reshi ML, Su Y-C, Hong J-R. RNA viruses: ROS-mediated cell death. *Int J Cell Biol.* 2014;2014.
2. Zhang Z, Rong L, Li Y-P. Flaviviridae viruses and oxidative stress: implications for viral pathogenesis. *Oxid Med Cell Longev.* 2019;2019.
3. Camini FC, da Silva Caetano CC, Almeida LT, de Brito Magalhaes CL. Implications of oxidative stress on viral pathogenesis. *Arch Virol.* 2017;162(4):907–17.
4. Liu M, Chen F, Liu T, Chen F, Liu S, Yang J. The role of oxidative stress in influenza virus infection. *Microbes Infect.* 2017;19(12):580–6.
5. Ivanov A V, Valuev-Elliston VT, Ivanova ON, Kochetkov SN, Starodubova ES, Bartosch B, et al. Oxidative stress during HIV infection: mechanisms and consequences. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016.
6. Rebbani K, Tsukiyama-Kohara K. HCV-induced oxidative stress: battlefield-winning strategy. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016.
7. Buccigrossi V, Laudiero G, Russo C, Miele E, Sofia M, Monini M, et al. Chloride secretion induced by rotavirus is oxidative stress-dependent and inhibited by *Saccharomyces boulardii* in human enterocytes. *PLoS One.* 2014;9(6):e99830.
8. Delgado-Roche L, Mesta F. Oxidative stress as key player in severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection. *Arch Med Res.* 2020

9. Suhail S, Zajac J, Fossum C, Lowater H, McCracken C, Severson N, et al. Role of Oxidative Stress on SARS-CoV (SARS) and SARS-CoV-2 (COVID-19) Infection: A Review. *Protein J.* 2020;1–13.
10. Hyodo K, Hashimoto K, Kuchitsu K, Suzuki N, Okuno T. Harnessing host ROS-generating machinery for the robust genome replication of a plant RNA virus. *Proc Natl Acad Sci.* 2017;114(7):E1282–90.
11. Guerrero CA, Acosta O. Inflammatory and oxidative stress in rotavirus infection. *World J Virol.* 2016;5(2):38.
12. Khomich OA, Kochetkov SN, Bartosch B, Ivanov A V. Redox biology of respiratory viral infections. *Viruses.* 2018;10(8):392.
13. Beck MA, Levander OA. Dietary oxidative stress and the potentiation of viral infection. *Annu Rev Nutr.* 1998;18(1):93–116.
14. Beck MA, Handy J, Levander OA. The role of oxidative stress in viral infections. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;917(1):906–12.
15. Almond MH, Edwards MR, Barclay WS, Johnston SL. Obesity and susceptibility to severe outcomes following respiratory viral infection. *Thorax.* 2013;68(7):684–6.
16. Honce R, Schultz-Cherry S. Impact of obesity on influenza A virus pathogenesis, immune response, and evolution. *Front Immunol.* 2019;10:1071.
17. Gowdy KM, Krantz QT, King C, Boykin E, Jaspers I, Linak WP, et al. Role of oxidative stress on diesel-enhanced influenza infection in mice. *Part Fibre Toxicol.* 2010;7(1):34.
18. Nakagawa K, Lokugamage KG, Makino S. Viral and cellular mRNA translation in coronavirus-infected cells. In: *Advances in virus research.* Elsevier; 2016. p. 165–92.
19. Hakim M, Fass D. Cytosolic disulfide bond formation in cells infected with large nucleocytoplasmic DNA viruses. *Antioxid Redox Signal.* 2010;13(8):1261–71.
20. Kojer K, Riemer J. Balancing oxidative protein folding: the influences of reducing pathways on disulfide bond formation. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Proteins Proteomics.* 2014;1844(8):1383–90.
21. Schmitz ML, Kracht M, Saul V V. The intricate interplay between RNA viruses and NF- κ B. *Biochim Biophys Acta (BBA)-Molecular Cell Res.* 2014;1843(11):2754–64.
22. Struzik J, Szulc-Dąbrowska L. Manipulation of non-canonical NF- κ B signaling by non-oncogenic viruses. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2019;67(1):41–8.
23. Guerrero CA, Murillo A, Acosta O. Inhibition of rotavirus infection in cultured cells by N-acetylcysteine, PPAR γ agonists and NSAIDs. *Antiviral Res.* 2012;96(1):1–12.
24. Gómez D, Muñoz N, Guerrero R, Acosta O, Guerrero CA. PPAR γ agonists as an anti-inflammatory treatment inhibiting rotavirus infection of small intestinal villi. *PPAR Res.* 2016;2016.
25. Guerrero CA, Paula Pardo VR, Rafael Guerrero OA. Inhibition of rotavirus ECwt infection in ICR suckling mice by N-acetylcysteine,

- peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists and cyclooxygenase-2 inhibitors. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2013;108(6):741–54.
26. Guerrero CA, Torres DP, García LL, Guerrero RA, Acosta O. N-Acetylcysteine Treatment of Rotavirus-Associated Diarrhea in Children. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 2014;34(11):e333–40.
 27. Marino-Merlo F, Papaiani E, Medici MA, Macchi B, Grelli S, Mosca C, et al. HSV-1-induced activation of NF- κ B protects U937 monocytic cells against both virus replication and apoptosis. *Cell Death Dis*. 2016;7(9):e2354–e2354.
 28. Tai D, Tsai S, Chen Y, Chuang Y, Peng C, Sheen I, et al. Activation of nuclear factor κ B in hepatitis C virus infection: implications for pathogenesis and hepatocarcinogenesis. *Hepatology*. 2000;31(3):656–64.
 29. Paracha UZ, Fatima K, Alqahtani M, Chaudhary A, Abuzenadah A, Damanhoury G, et al. Oxidative stress and hepatitis C virus. *Virol J*. 2013;10(1):1–9.
 30. Brady G, Bowie AG. Innate immune activation of NF κ B and its antagonism by poxviruses. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2014;25(5):611–20.
 31. Huang J, Hume AJ, Abo KM, Werder RB, Villacorta-Martin C, Alysandratos K-D, et al. SARS-CoV-2 infection of pluripotent stem cell-derived human lung alveolar type 2 cells elicits a rapid epithelial-intrinsic inflammatory response. *Cell Stem Cell*. 2020;
 32. Lauxmann MA, Santucci NE, Autrán-Gómez AM. The SARS-CoV-2 coronavirus and the COVID-19 outbreak. *Int braz j urol*. 2020;46:6–18.
 33. Shimizu Y, Hendershot LM. Oxidative folding: cellular strategies for dealing with the resultant equimolar production of reactive oxygen species. *Antioxid Redox Signal*. 2009;11(9):2317–31.
 34. Huang J, Schneider RJ. Adenovirus inhibition of cellular protein synthesis involves inactivation of cap-binding protein. *Cell*. 1991;65(2):271–80.
 35. Yang D, Halaby MJ, Zhang Y. The identification of an internal ribosomal entry site in the 5'-untranslated region of p53 mRNA provides a novel mechanism for the regulation of its translation following DNA damage. *Oncogene*. 2006;25(33):4613–9.
 36. Lee Y-H, Lai C-L, Hsieh S-H, Shieh C-C, Huang L-M, Wu-Hsieh BA. Influenza A virus induction of oxidative stress and MMP-9 is associated with severe lung pathology in a mouse model. *Virus Res*. 2013;178(2):411–22.
 37. Godet A-C, David F, Hantelys F, Tatin F, Lacazette E, Garmy-Susini B, et al. IRES trans-acting factors, key actors of the stress response. *Int J Mol Sci*. 2019;20(4):924.
 38. Gendron K, Ferbeyre G, Heveker N, Brakier-Gingras L. The activity of the HIV-1 IRES is stimulated by oxidative stress and controlled by a negative regulatory element. *Nucleic Acids Res*. 2011;39(3):902–12.
 39. Ghosh A, Shcherbik N. Effects of Oxidative Stress on Protein Translation: Implications for Cardiovascular Diseases. *Int J Mol Sci*. 2020;21(8):2661.

40. Lindquist S. Varying patterns of protein synthesis in *Drosophila* during heat shock: implications for regulation. *Dev Biol.* 1980;77(2):463–79.
41. Bonneau AM, Sonenberg N. Involvement of the 24-kDa cap-binding protein in regulation of protein synthesis in mitosis. *J Biol Chem.* 1987;262(23):11134–9.
42. Holcik M, Lefebvre C, Yeh C, Chow T, Korneluk RG. A new internal-ribosome-entry-site motif potentiates XIAP-mediated cytoprotection. *Nat Cell Biol.* 1999;1(3):190–2.
43. Coldwell MJ, Mitchell SA, Stoneley M, MacFarlane M, Willis AE. Initiation of Apaf-1 translation by internal ribosome entry. *Oncogene.* 2000;19(7):899–905.
44. Ray PS, Grover R, Das S. Two internal ribosome entry sites mediate the translation of p53 isoforms. *EMBO Rep.* 2006;7(4):404–10.
45. Stoneley M, Chappell SA, Jopling CL, Dickens M, MacFarlane M, Willis AE. c-Myc protein synthesis is initiated from the internal ribosome entry segment during apoptosis. *Mol Cell Biol.* 2000;20(4):1162–9.
46. Vagner S, Gensac M-C, Maret A, Bayard F, Amalric F, Prats H, et al. Alternative translation of human fibroblast growth factor 2 mRNA occurs by internal entry of ribosomes. *Mol Cell Biol.* 1995;15(1):35–44.
47. Morfoisse F, Tatin F, Hantelys F, Adoue A, Helfer A-C, Cassant-Sourdy S, et al. Nucleolin Promotes Heat Shock-Associated Translation of VEGF-D to Promote Tumor Lymphangiogenesis. *Cancer Res.* 2016;76(15):4394–405.
48. Reddy PVB, Agudelo M, Atluri VSR, Nair MP. Inhibition of nuclear factor erythroid 2-related factor 2 exacerbates HIV-1 gp120-induced oxidative and inflammatory response: role in HIV associated neurocognitive disorder. *Neurochem Res.* 2012;37(8):1697–706.
49. Kalinowska M, Bazdar DA, Lederman MM, Funderburg N, Sieg SF. Decreased IL-7 responsiveness is related to oxidative stress in HIV disease. *PLoS One.* 2013;8(3):e58764.
50. Hagen TM, Huang S, Curnutte J, Fowler P, Martinez V, Wehr CM, et al. Extensive oxidative DNA damage in hepatocytes of transgenic mice with chronic active hepatitis destined to develop hepatocellular carcinoma. *Proc Natl Acad Sci.* 1994;91(26):12808–12.
51. Rehermann B, Nascimbeni M. Immunology of hepatitis B virus and hepatitis C virus infection. *Nat Rev Immunol.* 2005;5(3):215–29.
52. Lee C. Therapeutic modulation of virus-induced oxidative stress via the Nrf2-dependent antioxidative pathway. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018.
53. Garofalo RP, Kolli D, Casola A. Respiratory syncytial virus infection: mechanisms of redox control and novel therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* 2013;18(2):186–217.
54. Cho H-Y, Imani F, Miller-DeGraff L, Walters D, Melendi GA, Yamamoto M, et al. Antiviral activity of Nrf2 in a murine model of respiratory syncytial virus disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2009;179(2):138–50.

55. Chen X, Ren F, Hesketh J, Shi X, Li J, Gan F, et al. Reactive oxygen species regulate the replication of porcine circovirus type 2 via NF- κ B pathway. *Virology*. 2012;426(1):66–72.
56. Ruggieri A, Anticoli S, Nencioni L, Sgarbanti R, Garaci E, Palamara AT. Interplay between hepatitis C virus and redox cell signaling. *Int J Mol Sci*. 2013;14(3):4705–21.
57. Jang SK, Kräusslich HG, Nicklin MJ, Duke GM, Palmenberg AC, Wimmer E. A segment of the 5' nontranslated region of encephalomyocarditis virus RNA directs internal entry of ribosomes during in vitro translation. *J Virol*. 1988;62(8):2636–43.
58. Pelletier J, Sonenberg N. Internal initiation of translation of eukaryotic mRNA directed by a sequence derived from poliovirus RNA. *Nature*. 1988;334(6180):320–5.
59. Mokrejš M, Vopálenský V, Kolenatý O, Mašek T, Feketová Z, Sekyrová P, et al. IRESite: the database of experimentally verified IRES structures (www.iresite.org). *Nucleic Acids Res*. 2006;34(suppl_1):D125–30.
60. Balvay L, Lastra ML, Sargueil B, Darlix J-L, Ohlmann T. Translational control of retroviruses. *Nat Rev Microbiol*. 2007;5(2):128–40.
61. Berlioz C, Darlix J-L. An internal ribosomal entry mechanism promotes translation of murine leukemia virus gag polyprotein precursors. *J Virol*. 1995;69(4):2214–22.
62. Jackson RJ. The current status of vertebrate cellular mRNA IRESs. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2013;5(2):a011569.
63. Kwan T, Thompson SR. Noncanonical translation initiation in eukaryotes. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2019;11(4):a032672.
64. Wang C, Sarnow P, Siddiqui A. Translation of human hepatitis C virus RNA in cultured cells is mediated by an internal ribosome-binding mechanism. *J Virol*. 1993;67(6):3338–44.
65. Créancier L, Morello D, Mercier P, Prats A-C. Fibroblast growth factor 2 internal ribosome entry site (IRES) activity ex vivo and in transgenic mice reveals a stringent tissue-specific regulation. *J Cell Biol*. 2000;150(1):275–81.
66. Ji B, Harris BRE, Liu Y, Deng Y, Gradilone SA, Cleary MP, et al. Targeting IRES-mediated p53 synthesis for cancer diagnosis and therapeutics. *Int J Mol Sci*. 2017;18(1):93.
67. Griffiths A, Coen DM. An unusual internal ribosome entry site in the herpes simplex virus thymidine kinase gene. *Proc Natl Acad Sci*. 2005;102(27):9667–72.
68. Yu Y, Alwine JC. 19S late mRNAs of simian virus 40 have an internal ribosome entry site upstream of the virion structural protein 3 coding sequence. *J Virol*. 2006;80(13):6553–8.
69. Coleman HM, Brierley I, Stevenson PG. An internal ribosome entry site directs translation of the murine gammaherpesvirus 68 MK3 open reading frame. *J Virol*. 2003;77(24):13093–105.
70. Bieleski L, Talbot SJ. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus vCyclin open reading frame contains an internal ribosome entry site. *J Virol*. 2001;75(4):1864–9.

71. Tahiri-Alaoui A, Smith LP, Baigent S, Kgosana L, Petherbridge LJ, Lambeth LS, et al. Identification of an intercistronic internal ribosome entry site in a Marek's disease virus immediate-early gene. *J Virol.* 2009;83(11):5846–53.
72. Chan S-W. Hydrogen peroxide induces La cytoplasmic shuttling and increases hepatitis C virus internal ribosome entry site-dependent translation. *J Gen Virol.* 2016;97(9):2301.
73. Gac M, Bigda J, Vahlenkamp TW. Increased mitochondrial superoxide dismutase expression and lowered production of reactive oxygen species during rotavirus infection. *Virology.* 2010;404(2):293–303.
74. Gjyshi O, Bottero V, Veettil MV, Dutta S, Singh VV, Chikoti L, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus induces Nrf2 during de novo infection of endothelial cells to create a microenvironment conducive to infection. *PLoS Pathog.* 2014;10(10):e1004460.
75. Hosakote YM, Jantzi PD, Esham DL, Spratt H, Kurosky A, Casola A, et al. Viral-mediated inhibition of antioxidant enzymes contributes to the pathogenesis of severe respiratory syncytial virus bronchiolitis. *Am J Respir Crit Care Med.* 2011;183(11):1550–60.
76. Stehbens WE. Oxidative stress in viral hepatitis and AIDS. *Exp Mol Pathol.* 2004;77(2):121–32.
77. Choi J, James Ou J-H. Mechanisms of liver injury. III. Oxidative stress in the pathogenesis of hepatitis C virus. *Am J Physiol Liver Physiol.* 2006;290(5):G847–51.
78. Price TO, Ercal N, Nakaoke R, Banks WA. HIV-1 viral proteins gp120 and Tat induce oxidative stress in brain endothelial cells. *Brain Res.* 2005;1045(1–2):57–63.
79. Olnier D, Peri S, Steel C, van Montfoort N, Chiang C, Beljanski V, et al. Cellular oxidative stress response controls the antiviral and apoptotic programs in dengue virus-infected dendritic cells. *PLoS Pathog.* 2014;10(12):e1004566.
80. Jiang Y, Scofield VL, Yan M, Qiang W, Liu N, Reid AJ, et al. Retrovirus-induced oxidative stress with neuroimmunodegeneration is suppressed by antioxidant treatment with a refined monosodium α -luminol (Galavit). *J Virol.* 2006;80(9):4557–69.
81. Fukuyama S, Kawaoka Y. The pathogenesis of influenza virus infections: the contributions of virus and host factors. *Curr Opin Immunol.* 2011;23(4):481–6.
82. Santoro MG, Rossi A, Amici C. NF- κ B and virus infection: who controls whom. *EMBO J.* 2003;22(11):2552–60.
83. Cecchini R, Cecchini AL. SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression. *Med Hypotheses.* 2020;143:110102.
84. Mehta P, McAuley DF, Brown M, Sanchez E, Tattersall RS, Manson JJ, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression. *Lancet (London, England).* 2020;395(10229):1033.
85. Imai Y, Kuba K, Neely GG, Yaghubian-Malhami R, Perkmann T, van Loo G, et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury. *Cell.* 2008;133(2):235–49.
86. Muralidharan S, Mandrekar P.

- Cellular stress response and innate immune signaling: integrating pathways in host defense and inflammation. *J Leukoc Biol.* 2013;94(6):1167–84.
87. Chen Y, Zhou Z, Min W. Mitochondria, oxidative stress and innate immunity. *Front Physiol.* 2018;9:1487.
88. Poe FL, Corn J. N-Acetylcysteine: a potential therapeutic agent for SARS-CoV-2. *Med Hypotheses.* 2020;109862.
89. Geiler J, Michaelis M, Naczek P, Leutz A, Langer K, Doerr H-W, et al. N-acetyl-L-cysteine (NAC) inhibits virus replication and expression of pro-inflammatory molecules in A549 cells infected with highly pathogenic H5N1 influenza A virus. *Biochem Pharmacol.* 2010;79(3):413–20.
90. Narayanan A, Amaya M, Voss K, Chung M, Benedict A, Sampey G, et al. Reactive oxygen species activate NF κ B (p65) and p53 and induce apoptosis in RVFV infected liver cells. *Virology.* 2014;449:270–86.
91. Kim HJ, Kim C-H, Ryu J-H, Kim M-J, Park CY, Lee JM, et al. Reactive oxygen species induce antiviral innate immune response through IFN- λ regulation in human nasal epithelial cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013;49(5):855–65.
92. Casola A, Burger N, Liu T, Jamaluddin M, Brasier AR, Garofalo RP. Oxidant tone regulates RANTES gene expression in airway epithelial cells infected with respiratory syncytial virus Role in viral-induced interferon regulatory factor activation. *J Biol Chem.* 2001;276(23):19715–22.
93. Liu B, Fang M, He Z, Cui D, Jia S, Lin X, et al. Hepatitis B virus stimulates G6PD expression through HBx-mediated Nrf2 activation. *Cell Death Dis.* 2015;6(11):e1980–e1980.
94. Kosmider B, Messier EM, Janssen WJ, Nahreini P, Wang J, Hartshorn KL, et al. Nrf2 protects human alveolar epithelial cells against injury induced by influenza A virus. *Respir Res.* 2012;13(1):43.
95. Kharazmi A, Nielsen H, Schiøtz PO. N-acetylcysteine inhibits human neutrophil and monocyte chemotaxis and oxidative metabolism. *Int J Immunopharmacol.* 1988;10(1):39–46.
96. Huang S, Zhu B, Cheon IS, Goplen NP, Jiang L, Zhang R, et al. PPAR- γ in macrophages limits pulmonary inflammation and promotes host recovery following respiratory viral infection. *J Virol.* 2019;93(9).
97. Knipe B, Potula R, Ramirez SH. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation suppresses HIV-1 replication in an animal model of encephalitis. 2008;
98. Gopal R, Mendy A, Marinelli MA, Richwalls LJ, Seger PJ, Patel S, et al. Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma (PPAR γ) Suppresses Inflammation and Bacterial Clearance during Influenza-Bacterial Super-Infection. *Viruses.* 2019;11(6):505.
99. Arnold R, Neumann M, König W. Peroxisome proliferator-activated receptor- γ agonists inhibit respiratory syncytial virus-induced expression of intercellular adhesion molecule-1 in human lung epithelial cells. *Immunology.* 2007;121(1):71–81.
100. Belvisi MG, Hele DJ, Birrell MA.

- Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists as therapy for chronic airway inflammation. *Eur J Pharmacol.* 2006;533(1–3):101–9.
101. Ciavarella C, Motta I, Valente S, Pasquinelli G. Pharmacological (or Synthetic) and Nutritional Agonists of PPAR- γ as Candidates for Cytokine Storm Modulation in COVID-19 Disease. *Molecules.* 2020;25(9):2076.
102. Genolet R, Wahli W, Michalik L. PPARs as drug targets to modulate inflammatory responses? *Curr Drug Targets-Inflammation Allergy.* 2004;3(4):361–75.
103. Clark RB. The role of PPARs in inflammation and immunity. *J Leukoc Biol.* 2002;71(3):388–400.
104. Qi C, Zhu Y, Reddy JK. Peroxisome proliferator-activated receptors, coactivators, and downstream targets. *Cell Biochem Biophys.* 2000;32(1–3):187.
105. Leopold Wager CM, Arnett E, Schlesinger LS. Macrophage nuclear receptors: Emerging key players in infectious diseases. *PLoS Pathog.* 2019;15(3):e1007585.
106. Yeligar SM, Ward JM, Harris FL, Brown LAS, Guidot DM, Cribbs SK. Dysregulation of Alveolar Macrophage PPAR γ , NADPH Oxidases, and TGF β 1 in Otherwise Healthy HIV-Infected Individuals. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2017;33(10):1018–26.
107. Villapol S. Roles of peroxisome proliferator-activated receptor gamma on brain and peripheral inflammation. *Cell Mol Neurobiol.* 2018;38(1):121–32.
108. Martin H. Role of PPAR-gamma in inflammation. Prospects for therapeutic intervention by food components. *Mutat Res Mol Mech Mutagen.* 2010;690(1–2):57–63.
109. Sozio MS, Lu C, Zeng Y, Liangpunsakul S, Crabb DW. Activated AMPK inhibits PPAR- α and PPAR- γ transcriptional activity in hepatoma cells. *Am J Physiol Liver Physiol.* 2011;301(4):G739–47.
110. Sreekanth GP, Panaampon J, Suttitheptumrong A, Chuncharunee A, Bootkunha J, Yenchitsomanus P, et al. Drug repurposing of N-acetyl cysteine as antiviral against dengue virus infection. *Antiviral Res.* 2019;166:42–55.
111. Amici C, La Frazia S, Brunelli C, Balsamo M, Angelini M, Santoro MG. Inhibition of viral protein translation by indomethacin in vesicular stomatitis virus infection: role of e IF 2 α kinase PKR. *Cell Microbiol.* 2015;17(9):1391–404.
112. Chen N, Warner JL, Reiss CS. NSAID treatment suppresses VSV propagation in mouse CNS. *Virology.* 2000;276(1):44–51.
113. Mata M, Morcillo E, Gimeno C, Cortijo J. N-acetyl-L-cysteine (NAC) inhibit mucin synthesis and pro-inflammatory mediators in alveolar type II epithelial cells infected with influenza virus A and B and with respiratory syncytial virus (RSV). *Biochem Pharmacol.* 2011;82(5):548–55.
114. Bellavite P, Donzelli A. Hesperidin and SARS-CoV-2: New Light on the Healthy Function of Citrus Fruits. *Antioxidants (Basel)* 2020 Aug 13; 9 (8).
115. Singh J, Dhindsa RS, Misra V, Singh B. SARS-CoV2 infectivity is potentially modulated by host redox status. *Comput Struct Biotechnol J.* 2020;18:3705–11.
116. Guthappa R. Molecular Docking

- Studies of N-Acetyl Cysteine, Zinc Acetyl Cysteine and Niclosamide on SARS Cov 2 Protease and Its Comparison with Hydroxychloroquine. 2020;
117. Nasi A, McArdle S, Gaudernack G, Westman G, Melief C, Rockberg J, et al. Reactive oxygen species as an initiator of toxic innate immune responses in retort to SARS-CoV-2 in an ageing population, consider N-acetylcysteine as early therapeutic intervention. *Toxicol reports*. 2020;7:768–71.
 118. DeDiego ML, Nieto-Torres JL, Regla-Nava JA, Jimenez-Guardeño JM, Fernandez-Delgado R, Fett C, et al. Inhibition of NF-κB-mediated inflammation in severe acute respiratory syndrome coronavirus-infected mice increases survival. *J Virol*. 2014;88(2):913–24.
 119. Fan X, Staitieh BS, Jensen JS, Mould KJ, Greenberg JA, Joshi PC, et al. Activating the Nrf2-mediated antioxidant response element restores barrier function in the alveolar epithelium of HIV-1 transgenic rats. *Am J Physiol Cell Mol Physiol*. 2013;305(3):L267–77.
 120. Bai Z, Zhao X, Li C, Sheng C, Li H. EV71 virus reduces Nrf2 activation to promote production of reactive oxygen species in infected cells. *Gut Pathog*. 2020;12:1–12.
 121. Komaravelli N, Ansar M, Garofalo RP, Casola A. Respiratory syncytial virus induces NRF2 degradation through a promyelocytic leukemia protein-ring finger protein 4 dependent pathway. *Free Radic Biol Med*. 2017;113:494–504.
 122. Deramaudt TB, Dill C, Bonay M. Regulation of oxidative stress by Nrf2 in the pathophysiology of infectious diseases. *Médecine Mal Infect*. 2013;43(3):100–7.
 123. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S-C. NF-κB signaling in inflammation. *Signal Transduct Target Ther*. 2017;2(1):1–9.
 124. Kim JH, Gupta SC, Park B, Yadav VR, Aggarwal BB. Turmeric (*Curcuma longa*) inhibits inflammatory nuclear factor (NF)-κB and NF-κB-regulated gene products and induces death receptors leading to suppressed proliferation, induced chemosensitization, and suppressed osteoclastogenesis. *Mol Nutr Food Res*. 2012;56(3):454–65.
 125. Checconi P, De Angelis M, Marcocci ME, Fraternali A, Magnani M, Palamara AT, et al. Redox-Modulating Agents in the Treatment of Viral Infections. *Int J Mol Sci*. 2020;21(11):4084.
 126. Cantin AM, North SL, Hubbard RC, Crystal RG. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione. *J Appl Physiol*. 1987;63(1):152–7.
 127. Winterbourn CC, Hampton MB. Thiol chemistry and specificity in redox signaling. *Free Radic Biol Med*. 2008;45(5):549–61.
 128. Patra U, Mukhopadhyay U, Mukherjee A, Sarkar R, Chawla-Sarkar M. Progressive Rotavirus Infection Downregulates Redox-Sensitive Transcription Factor Nrf2 and Nrf2-Driven Transcription Units. *Oxid Med Cell Longev*. 2020;2020.
 129. Horowitz RI, Freeman PR, Bruzzese J. Efficacy of glutathione therapy in relieving dyspnea associated with COVID-19 pneumonia: A report of 2 cases. *Respir Med case reports*.

- 2020;101063.
130. Zhong M, Sun A, Xiao T, Yao G, Sang L, Zheng X, et al. A Randomized, Single-blind, Group sequential, Active-controlled Study to evaluate the clinical efficacy and safety of α -Lipoic acid for critically ill patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19). medRxiv. 2020;
 131. Wang Y, Zhao S, Chen Y, Wang Y, Wang T, Wo X, et al. N-Acetyl cysteine effectively alleviates Cocksackievirus B-Induced myocarditis through suppressing viral replication and inflammatory response. *Antiviral Res.* 2020;179:104699.
 132. Shi Z, Puyo CA. N-Acetylcysteine to Combat COVID-19: An Evidence Review. *Ther Clin Risk Manag.* 2020;16:1047.
 133. HO W-Z, DOUGLAS SD. Glutathione and N-acetylcysteine suppression of human immunodeficiency virus replication in human monocyte/macrophages in vitro. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 1992;8(7):1249–53.
 134. Jorge-Aarón R-M, Rosa-Ester M-P. N-acetylcysteine as a potential treatment for COVID-19. *Future Medicine*; 2020.
 135. Sadowska AM, Manuel-y-Keenoy B, Vertongen T, Schippers G, Radomska-Lesniewska D, Heytens E, et al. Effect of N-acetylcysteine on neutrophil activation markers in healthy volunteers: in vivo and in vitro study. *Pharmacol Res.* 2006;53(3):216–25.
 136. Liu Y, Luo G, Qian X, Wu C, Tang Y, Chen B, et al. Experience of N-acetylcysteine airway management in the successful treatment of one case of critical condition with COVID-19. 2020;
 137. Ibrahim H, Perl A, Smith D, Lewis T, Kon Z, Goldenberg R, et al. Therapeutic blockade of inflammation in severe COVID-19 infection with intravenous N-acetylcysteine. *Clin Immunol.* 2020;219:108544.
 138. Codo AC, Davanzo GG, Monteiro LB, Souza G, Muraro S, Carregari V, et al. Elevated glucose levels favor SARS-CoV-2 infection and monocyte response through a HIF-1 α /glycolysis dependent axis. 2020;
 139. Calderon MN, Guerrero CA, Acosta O, Lopez S, Arias CF. Inhibiting rotavirus infection by membrane-impermeant thiol/disulfide exchange blockers and antibodies against protein disulfide isomerase. *Intervirology.* 2012;55(6):451–64.
 140. Rivera M, Guerrero CA, Acosta O. Thiol/disulfide exchange occurs in rotavirus structural proteins during contact with intestinal villus cell surface. *Acta Virol.* 2020;64(1):44–58.
 141. Bhattacharyay S, Hati S. Impact of Thiol-Disulfide Balance on the Binding of Covid-19 Spike Protein with Angiotensin Converting Enzyme 2 Receptor. bioRxiv. 2020;
 142. De Flora S, Balansky R, La Maestra S. Rationale for the use of N-acetylcysteine in both prevention and adjuvant therapy of COVID-19. *FASEB J.* 2020;34(10):13185–93.
 143. Hendrickson RG. What is the most appropriate dose of N-acetylcysteine after massive acetaminophen overdose? *Clin Toxicol.* 2019;57(8):686–91.