

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

FACULDADE DE MEDICINA

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE: INFECTOLOGIA E
MEDICINA TROPICAL**

JÚLIA FONSECA DE MORAIS CAPORALI

**POTENCIAL EVOCADO MIOGÊNICO VESTIBULAR (VEMP) GALVÂNICO
PARA AVALIAR A EVOLUÇÃO DA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-1
(HAM)**

Belo Horizonte

2018

JÚLIA FONSECA DE MORAIS CAPORALI

**POTENCIAL EVOCADO MIOGÊNICO VESTIBULAR (VEMP) GALVÂNICO
PARA AVALIAR A EVOLUÇÃO DA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-1
(HAM)**

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção de título de Doutor em Medicina.

Área de concentração: Ciências da Saúde – Infectologia e Medicina Tropical

Orientadora: Prof^a Denise Utsch Gonçalves
Universidade Federal de Minas Gerais

Belo Horizonte

2018

Universidade Federal de Minas Gerais

Reitora: Prof^a. Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-Reitor: Prof. Alessandro Fernandes Moreira

Pró-Reitor da Pós-Graduação: Prof. Fábio Alves da Silva Júnior

Pró-Reitor de Pesquisa: Prof. Mario Fernando Montenegro Campos

Diretor da Faculdade de Medicina: Prof. Humberto José Alves

Vice-Diretora da Faculdade de Medicina: Prof^a Alamanda Kfoury Pereira

Coordenador do Centro de Pós-Graduação: Prof. Tarcizo Afonso Nunes

Subcoordenadora do Centro de Pós-Graduação: Prof.^a Eli Iola Gurgel Andrade

Chefe do Departamento de Clínica Médica: Profa. Valéria Maria Augusto

Coordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e

Medicina Tropical: Prof. Eduardo Antônio Ferraz Coelho

Subcoordenador do Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e

Medicina Tropical: Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro

Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde: Infectologia e

Medicina Tropical:

Prof. Eduardo Antônio Ferraz Coelho (coordenador)

Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro (subcoordenador)

Prof. Daniel Vitor de Vasconcelos Santos

Prof^a. Denise Utsch Gonçalves

Prof. Unaí Tupinambás

Prof. Vandack Alencar Nobre Jr

Thaís Teodoro de Oliveira Santos (representante discente)

RESUMO

Introdução: O potencial evocado miogênico vestibular gerado por estimulação galvânica (VEMP galvânico) é um exame eletroneurofisiológico que avalia os tratos vestibuloespinhal e reticuloespinhal, que são tratos motores relacionados ao equilíbrio postural. O VEMP galvânico é um método seguro, não invasivo e de fácil realização que tem sido recentemente estudado para o diagnóstico precoce, prognóstico e monitorização da mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM). **Objetivo:** Investigar a concordância e a confiabilidade intra-examinador (repetibilidade) e inter-examinador do VEMP galvânico e avaliar o uso desse exame na evolução da HAM. **Metodologia:** A etapa de avaliação de concordância e confiabilidade consistiu na análise do exame de 96 indivíduos, sendo 45 controles não infectados e 51 infectados pelo HTLV-1, dos quais 27 eram assintomáticos e 24 apresentavam diagnóstico de HAM. A segunda etapa consistiu no acompanhamento através do VEMP galvânico e pelas escalas de status clínico neurológico EDSS (Escala de Incapacidade Funcional Expandida) e OMDS (Escala de Incapacidade Motora de Osame) durante o período de 2013 a 2017 de 49 pacientes com HTLV-1, sendo 26 assintomáticos (AS), 14 com possível HAM (pHAM) e 9 com HAM definida (dHAM). O protocolo foi aplicado na entrada e após 11 a 36 meses. O VEMP foi captado no músculo gastrocnêmio após aplicação do estímulo galvânico (elétrico) de baixa intensidade nos processos mastoídeos. As variáveis analisadas foram as respostas evocadas de curta latência (SL) e de média latência (ML) do VEMP em relação aos escores de EDSS e OMDS. **Resultados:** Na amostra de 96 indivíduos, as medianas foram 56 ms (intervalo interquartil IQ: 52-66) para SL e 120 ms (IQ: 107-130) para ML. As medidas de concordância e confiabilidade intra-examinador de SL e ML foram, respectivamente: coeficiente de repetibilidade (CR) de 16 e 22 ms; coeficiente de correlação intraclassa (ICC) de 0,80 ($p<0,001$) e 0,91 ($p<0,001$); e coeficiente Kappa de 0,53 ($p<0,001$) e 0,82 ($p<0,001$). As medidas inter-examinador de SL e ML foram, respectivamente: CR de 8 e 27 ms; ICC de 0,95 ($p<0,001$) e 0,86 ($p<0,001$); e coeficiente Kappa de 0,77 ($p<0,001$) e 0,88 ($p<0,001$). Em relação ao EDSS, com mediana de 20 meses de seguimento, observou-se melhora no grupo AS de $0,5 \pm 0,5$ para $0,2 \pm 0,5$ ($p=0,014$) e melhora no grupo pHAM de $2,5 \pm 1,7$ para $1,9 \pm 1,9$ ($p=0,027$). O grupo dHAM manteve o escore entre $5,6 \pm 1,2$, na primeira avaliação e $5,7 \pm 1,1$, na segunda ($p=0,655$). O escore OMDS não apresentou diferença longitudinal significativa em nenhum dos grupos. Em relação ao VEMP, no seguimento, considerando-se a amostra total, a taxa de normalidade aumentou tanto para SL ($p=0,014$) quanto para ML ($p=0,013$) devido a melhora nos assintomáticos. O grupo pHAM apresentou melhora de ML,

mas não de SL. O grupo dHAM manteve a elevada frequência de SL e ML anormais. Em suma, no seguimento, a taxa de VEMP galvânico alterado diminuiu de 53,2 % para 46,2 % ($p=0,045$) no grupo AS, permaneceu em 78,0% no grupo pHAM e em 88,9% no grupo dHAM. Houve correlação fraca a moderada das variáveis do VEMP com as variáveis clínicas EDSS e OMDS. **Conclusão:** O VEMP galvânico mostrou ter concordância e confiabilidade intra e inter-examinador adequadas. A avaliação longitudinal de pacientes em risco de desenvolver HAM e com HAM definida mostrou flutuação do equilíbrio postural, com melhora entre os assintomáticos durante o período. Entre os pacientes com pHAM e dHAM, observou-se elevada frequência de VEMP alterado, embora tenha sido observado melhora em alguns indivíduos. Os resultados sugerem a existência de flutuações no comprometimento medular, tanto em assintomáticos quanto em pacientes com HAM.

Palavras-chave: HTLV-1; Mielopatia Associada ao HTLV-1; Potencial Evocado Miogênico Vestibular; Estimulação Vestibular Galvânica; Equilíbrio Postural; Reproducibilidade de Testes; Estudo Prospectivo.

ABSTRACT

Introduction: The vestibular evoked myogenic potential triggered by galvanic stimulus (galvanic-VEMP) is an electrophysiology exam that assesses the vestibulospinal and reticulospinal tracts, which are motor pathways related to the postural balance. It is a safe, non-invasive and easy to perform method that has recently been investigated as a biomarker for the early diagnosis, prognosis and monitoring of the HTLV-1 associated myelopathy (HAM). **Objective:** To study the intrarater (test-retest) and interrater agreement and reliability of the galvanic-VEMP and to use it to assess the evolution of HAM. **Methodology:** For the cross-sectional analysis of the agreement and reliability, galvanic-VEMP was performed in 96 subjects, of which 45 HTLV-1 negative normal controls and 51 HTLV-1 positive patients, being 27 asymptomatic carriers (AC) and 24 with HAM. Then, in a prospective study, galvanic-VEMP and disability scales (Expanded Disability Status Scale - EDSS and Osame's Motor Disability Scale - OMDS) were performed in 49 HTLV-1 positive individuals, of which 26 AC, 14 with possible HAM (pHAM) and 9 with defined HAM (dHAM), at baseline and after 11 to 36 months, from 2013 to 2017. Galvanic stimulus was applied on the mastoid processes and VEMP was obtained from the gastrocnemius muscle. The galvanic-VEMP variables were the short latency (SL) and the medium latency (ML) evoked responses. **Results:** In the total sample (n=96), the median latencies were 56 ms (IQR 52-66) for SL and 120 ms (IQR 107-130) for ML. The intrarater agreement and reliability measures for SL and ML were, respectively: RC of 16 and 22 ms; ICC of 0.80 (p<0.001) and 0.91 (p<0.001); and a Kappa coefficient of 0.53 (p<0.001) and 0.82 (p<0.001). The interrater measures for SL and ML were, respectively: RC of 8 and 27 ms; ICC of 0.95 (p<0.001) and 0.86 (p<0.001); and a Kappa coefficient of 0.77 (p<0.001) and 0.88 (p<0.001). After a median follow-up of 20 months, EDSS improved from 0.5 ± 0.5 to 0.2 ± 0.5 (p=0.014) in AC and from 2.5 ± 1.7 to 1.9 ± 1.9 (p=0.027) in pHAM. In the dHAM group, EDSS was unchanged, being 5.6 ± 1.2 in baseline and 5.7 ± 1.1 (p=0.655) after follow-up. The OMDS was stable in all groups. In the total sample, the rate of normal VEMP responses increased for SL (p=0.014) and for ML (p=0.013), due to improvement in the AC group. The pHAM group showed the same amelioration pattern for ML, but not for SL. In the dHAM group, G-VEMP variables did not show statistical difference from baseline to follow-up. In short, the rate of abnormal galvanic-VEMP decreased in the AC group from 53.2% to 46.2% (p=0.045) and was steady at 78,0% in pHAM and at 88.9% in dHAM. There was a weak to moderate correlation between the

galvanic-VEMP and the clinical variables. **Conclusion:** Galvanic-VEMP showed appropriate intra and inter-rater agreement and reliability. In the prospective study, the exam found fluctuation in postural balance, with improvement among AC. In the pHAM and dHAM groups, the high rate of abnormal VEMP remained stable, but some patients showed deterioration and others improved. The galvanic-VEMP findings suggest fluctuation in the spinal cord involvement either in asymptomatic as in individuals with HAM.

Keywords: HTLV-1; Myelopathy, HTLV-1-Associated; Vestibular-Evoked Myogenic Potential (VEMP); Galvanic vestibular stimulation (GVS); Postural balance; Electrophysiology; Reproducibility of Results; Prospective Study.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dra. Denise Utsch Gonçalves, pela dedicada e perspicaz orientação e pela compreensão das dificuldades, amizade e conversas para além do doutoramento.

Às fonoaudiólogas Dra. Ludimila Labanca, pela excepcional parceria em pesquisa, Dra. Luciana Cunha e doutoranda Tatiana Rocha Silva, pela importante participação no projeto.

Aos agora já graduados, então estudantes de medicina e de fonoaudiologia, Kyonis Florentino e Bárbara de Oliveira, pela compromissada atuação na iniciação científica.

À médica infectologista Dra. Ana Lúcia Starling Borges, pela acolhida no ambulatório de HTLV-1 do Centro de Tratamento e Referência Orestes Diniz e parceria no projeto de extensão.

Ao médico neurologista Dr. Luiz Cláudio Ferreira Romanelli, por compartilhar conhecimento e experiências em relação à mielopatia associada ao HTLV-1.

Ao Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV-1 (GIPH), pelos ensinamentos e trabalho em equipe.

Aos professores e chefes do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina da UFMG, principalmente aqueles da área de Infectologia e Medicina Tropical, pelo apoio, ensinamentos e troca de experiências.

Ao Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical, pela seriedade e busca por excelência, pelo notável suporte que dá aos seus discentes, pela competência de sua equipe administrativa e docente, proporcionando condições ótimas para a formação de pesquisadores e para a produção de conhecimento científico.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), pelo financiamento.

Aos membros da banca de qualificação, Prof. Paulo Christo Pereira, Prof. Vandack Alencar Nobre Jr. e Prof. Antônio Luiz Pinho Ribeiro, pela valiosa contribuição a esta tese.

Aos participantes voluntários da pesquisa, pela sua confiança e voluntariado.

À minha família, pelo afeto, suporte e compreensão.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Áreas endêmicas para o HTLV-1 no mundo.....	20
Figura 2 - Áreas endêmicas para o HTLV-1/2 no Brasil.....	21
Figura 3 - Potencial evocado miogênico vestibular com estímulo galvânico (VEMP galvânico) sendo realizado em paciente, com captação de resposta evocada em músculo gastrocnêmio.....	26
Figura 4 - Traçados das respostas evocadas do VEMP galvânico com captação em músculo gastrocnêmio, com indicação dos pontos considerados como resposta SL e resposta ML.....	28
Figura 5 - Esquema do procedimento do potencial evocado miogênico vestibular galvânico (VEMP galvânico).....	37
Figura 6 - Latências das respostas evocadas (SL e ML) captadas músculo gastrocnêmio no exame VEMP galvânico.....	38

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Critérios para os níveis de definição diagnóstica da mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM) segundo Castro-Costa e colaboradores 2006).....	23
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

cm – centímetros

CR – coeficiente de repetibilidade

C-VEMP – potencial evocado miogênico vestibular cervical

dHAM – mielopatia associada ao HTLV-1 definida

DNA – ácido desoxirribonucleico

DP – desvio padrão

EDSS – Escala de Incapacidade Funcional Expandida

EVG – estimulação vestibular galvânica

EMG – eletromiografia, eletromiográfica

ELISA – ensaio imunoenzimático

FM – Faculdade de Medicina

G-VEMP – potencial evocado miogênico vestibular galvânico

GIPH – Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV-1

HAM - mielopatia associada ao HTLV-1

HC – Hospital das Clínicas

HIV – vírus da imunodeficiência humana

HTLV-1 – vírus linfotrópico de células T do tipo 1

HTLV-2 – vírus linfotrópico de células T do tipo 2

ICC – coeficiente de correlação intraclass

IQ – intervalo interquartil

kHz – quiloHertz

LCR – líquido cefalorraquidiano

mA – miliAmpère

ML – resposta evocada de média latência

ms – milissegundos

MRE – mielorradiculopatia esquistossomótica

N – número de participantes

OMDS – Escala de incapacidade motora de Osame

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCR – reação em cadeia de polimerase

pHAM – mielopatia associada ao HTLV-1 possível

PPG-IMT – Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical

RNM – ressonância nuclear magnética

ROC – característica de operação do receptor

SL – resposta evocada de curta latência

SNC – sistema nervoso central

TCLE – termo de consentimento livre e esclarecido

UFMG – Universidade Federal de Minas Gerais

V – Volts

WB – western blot

SUMÁRIO

CONSIDERAÇÕES INICIAIS	15
1 INTRODUÇÃO	17
2 REFERENCIAL TEÓRICO.....	19
2.1 Vírus linfotrópico humano de células T-tipo 1 (HTLV-1).....	19
2.2 Potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica (VEMP galvânico)	25
2.2.1 Aspectos técnicos do VEMP galvânico.....	25
2.2.2 O uso do VEMP galvânico para diagnóstico de lesão medular	28
2.2.3 O uso da estimulação vestibular galvânica (EVG) para tratamento	29
2.2.4 Concordância e confiabilidade do VEMP galvânico.....	30
3 OBJETIVOS	32
3.1 Objetivo Geral	32
3.2 Objetivos Específicos.....	32
4 METODOLOGIA	33
4.1 Aspectos éticos	33
4.2 Delineamento do estudo	33
4.3 Grupos de participantes.....	33
4.4 Critérios de inclusão.....	34
4.5 Critérios de exclusão	35
4.6 Procedimentos, local da pesquisa e equipamentos	35
4.6.1 Procedimentos do VEMP galvânico	35
4.7.1 Variáveis do VEMP galvânico	38
4.7.2 Variáveis clínicas	40
4.8 Tamanho da amostra	40
4.9 Análise estatística	41
5 RESULTADOS.....	43
5.1 Artigo original com os resultados da primeira etapa da tese, submetido à revista PLOS ONE sob o código PONE-D-18-14141.....	43
5.2 Artigo original com os resultados da segunda etapa da tese	68
6 CONCLUSÕES	94
CONSIDERAÇÕES FINAIS	95
REFERÊNCIAS.....	97
ANEXO 1	103
ANEXO 2	104
ANEXO 3	105
ANEXO 4	106

ANEXO 5107

ANEXO 6110

ANEXO 7111

ANEXO 8113

CONSIDERAÇÕES INICIAIS

O presente estudo foi desenvolvido no Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical (PPG-IMT) da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) dentro da linha de pesquisa em vírus linfotrópico humano de células-T do tipo 1 e 2 (HTLV-1/2) e de maneira integrada ao Grupo Interdisciplinar de Pesquisas em HTLV (GIPH), do qual faço parte desde o início do doutorado, em 2015. Ingressei no doutorado com a proposta de realizar o estudo longitudinal do potencial evocado miogênico vestibular com estímulo galvânico (VEMP galvânico) em pacientes com HTLV-1 assintomáticos e com HAM, estudados transversalmente em tese de doutorado prévia, defendida no programa em 2016.

Pesquisas prévias com o potencial evocado miogênico vestibular (VEMP) utilizando-se para a geração da resposta evocada o estímulo auditivo (FELIPE et al. 2008, 2012; LABANCA et al., 2015) ou galvânico (CUNHA et al., 2013; CAPORALI et al. 2016) têm mostrado resultados interessantes na avaliação não invasiva da função medular de pacientes com mielopatia infecciosa, seja esquistossomótica, seja na associada ao HTLV-1. Alterações subclínicas em indivíduos assintomáticos infectados com HTLV-1 sugerem que o VEMP pode ser um marcador de diagnóstico precoce e de prognóstico. Em indivíduos já diagnosticados com mielopatia, observamos que a gravidade da alteração no VEMP galvânico mostrou correlação com a gravidade da lesão medular, indicando que esse exame pode também ter valor no monitoramento da atividade da doença. Esses resultados foram apresentados no Congresso Internacional sobre HTLV-1 em Tóquio, em 2017, e foram discutidos pela comunidade científica internacional. Nessa época, o seguimento pelo VEMP galvânico dos pacientes com risco de desenvolver HAM vinha sendo feito e como um dos produtos da minha tese de doutorado apresento os primeiros resultados prospectivos, após 11 a 36 meses de seguimento dos pacientes.

Várias publicações têm utilizado o VEMP galvânico como ferramenta de diagnóstico. Contudo, até o presente momento, eu não encontrei um estudo que tenha avaliado a concordância e a confiabilidade desse exame. O nosso grupo de pesquisa considerou importante avaliar esses parâmetros e, por isso, desenvolvi o meu doutorado em duas etapas não estanques: na primeira, como um estudo observacional transversal, avaliei a concordância e a confiabilidade do VEMP galvânico em indivíduos soronegativos saudáveis e em

indivíduos com HTLV-1 com e sem mielopatia. Na segunda etapa, como um estudo longitudinal, reavaliei através do VEMP galvânico e exame clínico os participantes com HTLV-1 que haviam sido estudados transversalmente na primeira etapa. No seguimento, esses indivíduos foram novamente avaliados, caracterizando 11 a 36 meses de seguimento.

A tese está estruturada em introdução, referencial teórico, objetivos e metodologia. Os resultados estão apresentados na forma de dois artigos originais, um para cada etapa do estudo. O primeiro artigo foi submetido à revista PLOS ONE e o segundo artigo aguarda as importantes contribuições da banca examinadora para posteriores modificações e submissão. Finalmente, a tese apresenta as conclusões, as considerações finais, as referências citadas e os anexos.

1 INTRODUÇÃO

O potencial evocado miogênico vestibular (VEMP, do inglês *vestibular evoked myogenic potential*) gerado por estimulação galvânica (VEMP galvânico) é um exame eletroneurofisiológico que avalia os tratos vestibuloespinhal e reticuloespinhal (BRITTON et al., 1993; FITZPATRICK et al., 1994; DAY et al., 1997; WELGAMPOLA & COLEBATCH, 2002; FITZPATRICK & DAY, 2004; KIM & CURTHOYS, 2004; GHANIM et al., 2009; COHEN et al., 2012; CURTHOYS & MACDOUGALL, 2012). Esses tratos são importantes para a manutenção do equilíbrio corporal e da postura básica (INUKAI et al., 2016). Eles fazem parte das vias extrapiramidais e terminam na medula em neurônios internunciais, através dos quais se ligam aos neurônios motores da coluna anterior e assim exercem sua função motora (AMINOFF, 2015).

A estimulação vestibular galvânica foi desenvolvida há quase duzentos anos para experimentos relacionados ao controle postural (PURKYNE, 1819 *apud* FITZPATRICK et al., 2004). Contudo, somente nas últimas quatro décadas, com modificações tecnológicas em relação aos experimentos iniciais, a estimulação galvânica tem sido utilizada por fisiologistas para gerar o VEMP, com o objetivo de estudar profundamente a função vestibular humana, particularmente no campo do controle do equilíbrio (DAY, 1999). Trata-se de procedimento seguro, não invasivo, de fácil realização e de baixo custo quando comparado aos exames de imagem como a ressonância nuclear magnética (RNM), que tem sido recentemente estudado para o diagnóstico de lesão da medula espinhal. Pesquisadores utilizaram o VEMP galvânico para investigar lesões medulares de diferentes etiologias, i. e., trauma, tumor, isquemia e infecções (ILES et al., 2004; LIECHTI et al., 2008; CAPORALI et al., 2016). Nesses estudos, foi observado que as respostas evocadas pelo estímulo vestibular galvânico estavam lentificadas ou abolidas na lesão medular. Da mesma maneira, o VEMP galvânico foi descrito como lentificado ou abolido na mielopatia associada ao vírus linfotrópico humano de células T do tipo 1 (HTLV-1) (HAM) (CUNHA et al., 2013). No estudo de Cunha e colaboradores (2013), as respostas evocadas estavam normais em 100% dos indivíduos controles saudáveis (n=13), alteradas em 100% dos pacientes com HAM (n=13) e alteradas em 31% dos indivíduos portadores assintomáticos do HTLV-1 (n=13) ($p<0,01$). Tais resultados levantaram a hipótese de que o VEMP galvânico estaria detectando alterações subclínicas em indivíduos infectados pelo HTLV-1, alterações essas que não estariam presentes em indivíduos saudáveis e sem o vírus. Propôs-se, então, que o VEMP galvânico fosse avaliado quanto ao seu valor no diagnóstico precoce, no prognóstico e no monitoramento da HAM.

A acurácia diagnóstica do VEMP galvânico na HAM foi avaliada em tese de doutorado defendida no Programa de Pós-graduação em Infectologia e Medicina Tropical da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), intitulada “Potencial evocado miogênico vestibular por estimulação galvânica e potenciais evocados auditivos de longa latência na mielopatia associada ao HTLV-1” (LABANCA, 2016). No estudo, as áreas sob a curva de característica de operação do receptor (curva ROC) das respostas evocadas do VEMP galvânico, a saber, a SL (*short latency* – curta latência) e a ML (*medium latency* – média latência), foram semelhantes: 0,83 para SL e 0,86 para ML ($p < 0,01$ para ambas). As respostas do VEMP galvânico estavam abolidas com maior frequência nos pacientes com HAM e lentificadas com maior frequência nos portadores assintomáticos com HTLV-1, como havia sido previamente mostrado no estudo de Cunha e colaboradores (2013). Com esses resultados positivos, sugeriu-se a realização de estudos longitudinais com o VEMP galvânico em indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos e com HAM, com o objetivo de avaliar o valor do exame em relação ao prognóstico e ao monitoramento da função medular na HAM.

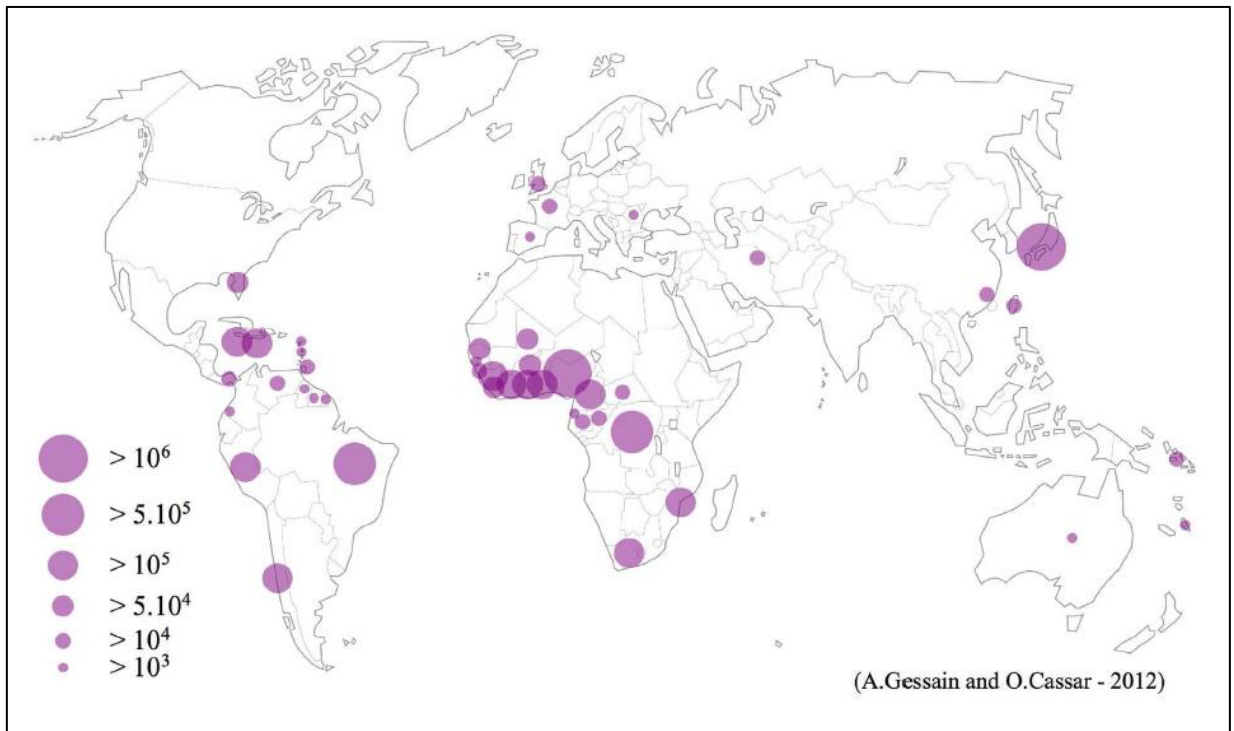
A presente tese consistiu de duas etapas. Na primeira, avaliaram-se as características de concordância e confiabilidade do VEMP galvânico. Na segunda, realizou-se um estudo longitudinal desse exame e de variáveis clínicas em pacientes infectados pelo HTLV-1 assintomáticos, com possível HAM e com HAM definida, de acordo com os critérios de Castro-Costa e colaboradores (2006).

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Vírus linfotrópico humano de células T-tipo 1 (HTLV-1)

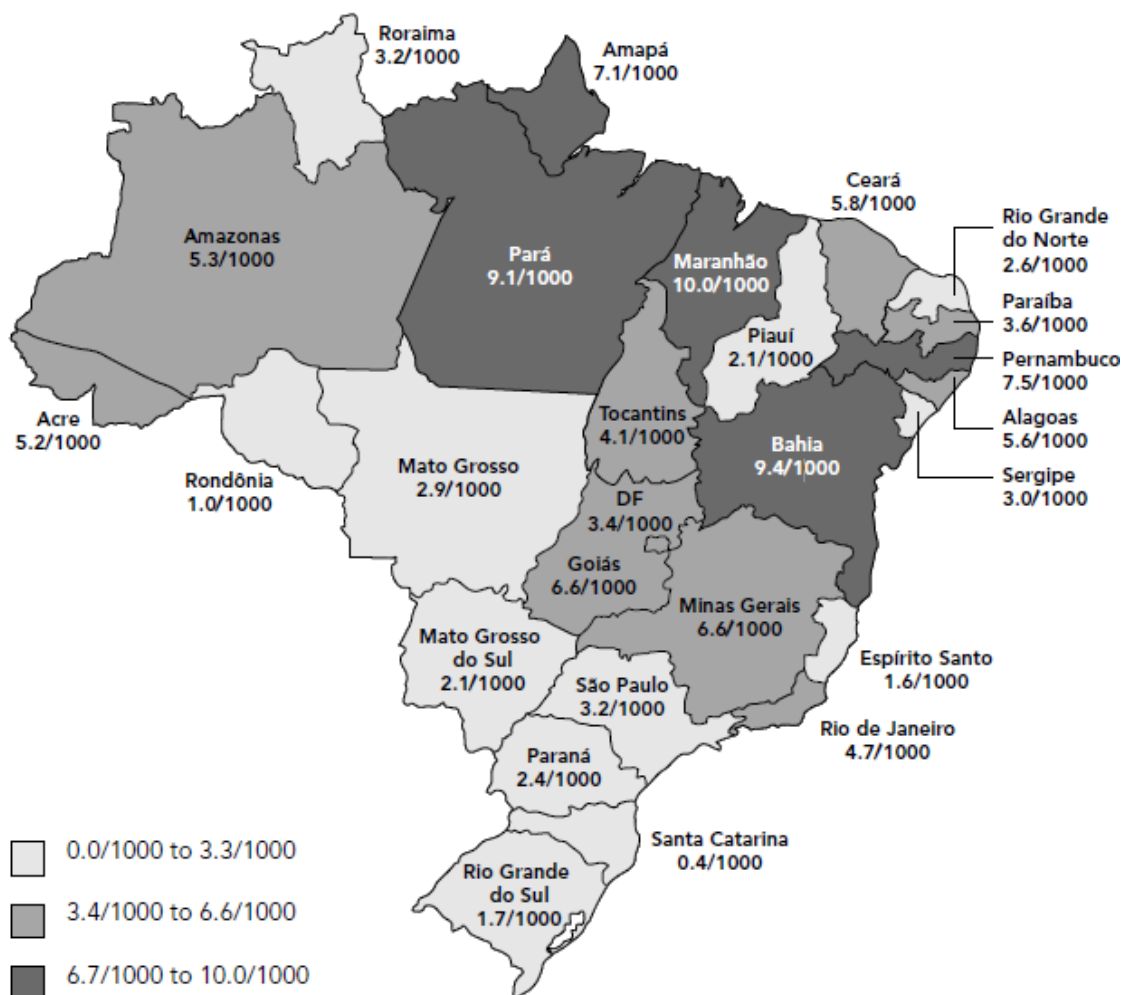
No ano de 1979, foi descrito o primeiro retrovírus humano, o vírus linfotrópico humano de células T do tipo 1 (HTLV-1) (GALLO, 2005). Estudos posteriores comprovaram a participação do vírus como agente etiológico da leucemia/ linfoma de células T do adulto (ATLL) (POIESZ et al., 1980; GALLO, 2005; TAYLOR & MATSUOKA, 2005) e na etiologia da mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM), também conhecida como paraparesia espástica tropical (TSP) (GESSAIN et al., 1985; OSAME et al.; 1986;). Estima-se que 5 a 20 milhões de pessoas no mundo estejam infectadas pelo HTLV-1 (DE THE & BOMFORD, 1993; YOSHIDA & JEANG, 2005; GESSAIN & CASSAR, 2012). Estudos preconizam que a África é o reservatório primário desse retrovírus, que é endêmico em diversas partes do mundo (SANTOS & LIMA, 2005). No Brasil, estudos de prevalência confirmam a presença do HTLV-1 em todo o país. Entre doadores de sangue provenientes das diferentes regiões brasileiras, a prevalência é variável, sendo de 0,08% nas regiões norte e sul (Manaus e Florianópolis) e 0,33% nas regiões nordeste e sudeste (Recife e Rio de Janeiro). A maior prevalência no Brasil é de 1,35% em Salvador (CATALAN-SOARES et al., 2001; SANTOS & LIMA, 2005). A soroprevalência média encontrada entre doadores brasileiros aptos à doação é cerca de 20 a 100 vezes mais alta do que a relatada para os Estados Unidos e a Europa. Esse fato, aliado à extensão territorial e ao tamanho da população, indica que o Brasil abriga o maior número absoluto de indivíduos soropositivos para HTLV-1 entre todos os países endêmicos (PROIETTI, 2011). As Figuras 1 e 2 apresentam as áreas endêmicas do HTLV-1 no mundo e no Brasil, respectivamente.

Figura 1 – Áreas endêmicas para o HTLV-1 no mundo.



Fonte: GESSAINS & CASSAR, 2012

Figura 2 – Áreas endêmicas para o HTLV-1/2 no Brasil.



Fonte: CATALAN-SOARES et al., 2005

A transmissão do HTLV-1 se dá por via transplacentária, durante o parto, pela amamentação, pela relação sexual, pela transfusão de hemoderivados contaminados e pelo uso de drogas injetáveis (SANTOS & LIMA, 2005). O teste de triagem sorológica da infecção pelo HTLV-1 é o ensaio imunoenzimático (ELISA) (RUDOLPH et al., 1993) e os testes confirmatórios são o Western Blot (WB) (LAL et al., 1992) e a detecção do DNA proviral através da reação em cadeia de polimerase (PCR) (HENEINE & KHABBAZ, 1992).

A história natural da infecção pelo HTLV-1 não está completamente elucidada, principalmente porque o tempo decorrido entre a exposição/infecção e o início da sintomatologia das doenças relacionadas ao HTLV-1 é longo (BORDUCCHI et al., 1999). Aproximadamente 95% dos indivíduos infectados permanecem assintomáticos ao longo da

vida (SANTOS & LIMA, 2005). Estudos demonstram que 0,25 a 4% dos indivíduos desenvolverão a mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM) (KAPLAN et al., 1990, MURPHY et al., 1997, MALONEY et al., 1998; ORLAND et al., 2003, ROMANELLI et al., 2013) e outros 2 a 6% desenvolverão a leucemia/linfoma de células T do adulto (ATLL) (TAYLOR & MATSOUKA, 2005). Sabe-se que diferentes fatores estão envolvidos na interação vírus/hospedeiro e o modo como essa interação se desenvolve determinará o estado de portador assintomático ou de paciente com a doença hematológica (ATLL) (TAYLOR & MATSOUKA, 2005) ou com a doença neurológica (HAM) (YAMANO et al., 2002).

2.1.1 Mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM)

O quadro clínico da HAM caracteriza-se por uma paraparesia com sinais de envolvimento do trato piramidal de progressão lenta e irreversível (KAPLAN et al., 1990; MALONEY et al., 1998; ORLAND et al., 2003; OLINDO et al., 2006). Contudo, uma minoria pode apresentar uma progressão rápida dos sintomas neurológicos (FRANZOI & ARAUJO, 2005, 2007; MILAGRES et al., 2002). Os sinais e sintomas neurológicos mais frequentemente encontrados são paraparesia espástica, parestesia em membros inferiores, bexiga e intestino neurogênicos, dor lombar e em membros inferiores, sensibilidade vibratória diminuída. A HAM acomete mais mulheres do que os homens, numa proporção de 2:1 a 3:1, com início dos sintomas na quarta e quinta décadas de vida (GOTUZZO et al., 2000, ROMÁN & OSAME et al., 1986; OLINDO et al., 2006; FRANZOI & ARAUJO, 2007; MATSUZAKI et al., 2001; MATSUURA et al., 2016). A incidência de HAM descrita em estudo brasileiro de tempo médio de seguimento de 7 anos foi de 5,3 casos por ano por 1000 indivíduos com sorologia positiva para HTLV-1 (ROMANELLI et al., 2013).

Em relação à patogênese da HAM, fortes evidências sugerem que o tecido nervoso seja lesado de forma indireta pelo HTLV-1 (JOHNSON, 2003). Linfócitos infectados, que apresentam maior capacidade de migração para o interior do SNC, possuem a capacidade de liberar citocinas e outros fatores neurotóxicos que seriam lesivos às células do parênquima (JOHNSON, 2003). Um estudo descreveu alterações no SNC relacionadas ao HTLV-1, observando, no encéfalo, áreas de inflamação perivascular na substância branca cerebral (CERVILLA et al., 2006). Outros estudos sugerem a ocorrência de alterações inflamatórias simultaneamente em todo o SNC (IWASAKI, 1993). A patogênese da HAM ainda não está completamente esclarecida, mas achados histopatológicos mostram infiltração linfocitária

perivascular na medula espinhal composta principalmente por linfócitos T-CD4+ na doença inicial e por linfócitos T-CD8+ na doença avançada, seguida por uma fase atrófica com menos celularidade (IWASAKI, 1993).

Em relação ao diagnóstico da HAM, Castro-Costa e colaboradores (2006) propuseram um modelo modificado com a classificação da HAM baseada em uma revisão da literatura e nos critérios propostos pela Organização Mundial de Saúde. Os resultados desse estudo encontram-se resumidos no Quadro 1.

Quadro 1 – Critérios para os níveis de definição diagnóstica da mielopatia associada ao HTLV-1 (HAM) segundo Castro-Costa e colaboradores, 2006.

Definido: Paraparesia espástica progressiva, não remissiva associada à marcha suficientemente comprometida para ser percebida pelo próprio paciente. Sintomas ou sinais sensitivos podem ou não estar presentes. Quando presentes, permanecem sutis e sem nível sensitivo. Sinais ou sintomas esfínterianos anais e urinários podem ou não estar presentes; Presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e líquido cefalorraquidiano (LCR), confirmados por <i>Western Blot</i> (WB) e/ou detecção do <i>Deoxyribonucleic acid</i> (DNA) proviral no sangue e/ou LCR; Exclusão de outras condições que se assemelham à HAM.
Provável: Apresentação monossintomática: espasticidade ou hiperreflexia dos membros inferiores ou sinal de Babinski com ou sem sinais sensitivos sutis ou bexiga neurogênica isolada confirmada por testes urodinâmicos; Presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e/ou LCR, confirmados por WB e/ou detecção do DNA proviral no sangue e/ou LCR; Exclusão de outras condições que se assemelham à HAM.
Possível: Apresentação clínica completa ou incompleta; Presença de anticorpos anti-HTLV-1 no soro e LCR, confirmados por Western blot e/ou detecção do DNA proviral no sangue e/ou LCR; Não exclusão de outras condições que se assemelham à HAM.

No que se refere a exames complementares utilizados na HAM, além das sorologias, PCR e exame do LCR citados nos critérios de diagnóstico de Castro-Costa e colaboradores (2006), a RNM é importante para excluir outras causas de mielopatia. Na HAM, a RNM está alterada na minoria dos casos, principalmente como atrofia medular no segmento torácico (UMEHARA et al., 2007). Alterações de sinal, impregnação de contraste e edema, quando

observadas, são mais comuns na coluna posterior ou lateral, no nível torácico ou cervical, evidenciando processo inflamatório ativo e podendo estar associadas à progressão mais rápida do quadro clínico (UMEHARA et al., 2007). Acometimento encefálico também foi observado, com detecção de múltiplas áreas de hipersinal em T2 na substância branca (KIRA et al., 1991; MELO et al., 1993; KURODA et al. 1995; FERRAZ et al., 1997). Os achados observados na RNM medular e encefálica da HAM são diferentes dos encontrados nas doenças desmielizantes, inflamatórias e isquêmicas. As alterações de imagem associadas à história clínica levam à suspeita clínica e ajudam no diagnóstico diferencial entre as mielopatias (ROMANELLI et al., 2015).

Os potenciais evocados motores e somatossensitivos podem auxiliar no diagnóstico da HAM. Evidenciam comprometimento das vias motoras e sensitivas centrais que se encontram alteradas em 80% ou mais dos pacientes com HAM quando realizados em membros inferiores, e com menor frequência em membros superiores. É descrita uma alta correlação entre o grau de alteração no exame e a gravidade do paciente (MORITOYO et al., 1996; SUGA et al., 1999; SHIMIZU et al., 2001; ANDRADE, 2005).

O potencial evocado miogênico vestibular cervical (VEMP cervical) com estímulo auditivo permitiu demonstrar que a HAM compromete todo o neuroeixo e não somente a medula tóraco-lombar, conforme havia sido apresentado nas primeiras publicações sobre a fisiopatologia da HAM. O VEMP cervical mostrou-se alterado em 80% dos pacientes com diagnóstico definido de HAM avaliados por Felipe e colaboradores (2008). Em seguimento de dois anos desses pacientes, esses autores observaram que os pacientes com HAM que apresentaram um resultado de VEMP cervical inicialmente normal ou pouco alterado, apresentaram piora do VEMP após média de 18 meses de acompanhamento, indicando uma extensão da lesão medular da região toraco-lombar, local que é comprometido mais precocemente, para a região cervical da medula. A modalidade de VEMP com estímulo galvânico (VEMP galvânico) avalia todo o neuroeixo e foi estudado em indivíduos infectados pelo HTLV-1 por Cunha e colaboradores (2013). O exame realizado em indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos mostrou-se alterado em 31% (n=13), enquanto, nos pacientes com HAM, mostrou-se alterado em 100% (n=13). Estudos prospectivos com o VEMP galvânico ainda não foram publicados.

Os estudos de potencial evocado vestibular (FELIPE et al., 2008, 2012; CUNHA et al., 2013; LABANCA et al., 2015) vem sendo conduzidos pelos pesquisadores do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV-1 (GIPH), uma parceria da Fundação Hemominas com

a UFMG, FHEMIG (Hospital Eduardo de Menezes), Fiocruz (Centro de Pesquisas René Rachou) e Rede SARAHE de Hospitais de Reabilitação em Belo Horizonte. Fundado em 1997, o GIPH se destaca no cenário nacional e internacional pela elevada qualidade de produção científica relacionada à epidemiologia, fisiopatologia, diagnóstico, tratamento e prevenção das doenças associadas ao HTLV-1/2. Inúmeros trabalhos de pós-graduação e parcerias internacionais vêm sendo feitos ao longo desses anos e estão disponíveis na página do CNPq – grupo de pesquisa GIPH (<http://dgp.cnpq.br/dgp/espelhogrupo/7453175043233931>). Desde 1997, o GIPH acompanha uma coorte que atualmente é composta de 570 indivíduos infectados assintomáticos e com as doenças associadas ao vírus.

2.2 Potencial evocado miogênico vestibular com estimulação galvânica (VEMP galvânico)

2.2.1 Aspectos técnicos do VEMP galvânico

O potencial evocado miogênico vestibular galvânico (VEMP galvânico) é uma técnica de eletroneurofisiologia que tem sido utilizada para esclarecer a fisiologia do sistema vestibular. O procedimento é simples, seguro, não invasivo e de baixo custo (FITZPATRICK & DAY, 2004).

O exame consiste no posicionamento de eletrodos nos processos mastoideos, ligados a uma fonte de corrente constante, que pode ser controlada e ajustada através de um circuito eletrônico. Usualmente a corrente aplicada fica em torno de 1 mA. Geralmente, o estímulo é oferecido em modo bilateral (ou binaural) e bipolar, ou seja, um eletrodo anodo é colocado atrás de uma orelha sobre o processo mastoideo do osso temporal e um eletrodo catodo é colocado atrás da outra orelha na mesma posição. A corrente é oferecida durante cerca de um segundo, o que causará um maior estímulo elétrico de um nervo vestibular em relação ao outro. Isso irá levar o indivíduo a ter a ilusória percepção de movimento (FITZPATRICK et al., 1994). Se o indivíduo estiver em pé ou sentado, particularmente se estiver de olhos fechados, seu corpo responderá ao estímulo com um balanço na direção do anodo (DAY et al., 1997; WELGAMPOLA & COLEBATCH, 2002; GHANIM et al., 2009). Considera-se que o sistema nervoso central (SNC) interpreta o estímulo vestibular galvânico (EVG) como um movimento real do corpo, ativando mecanismos reflexos posturais compensatórios (DAY et al., 1997).

O EVG modula a atividade muscular dos músculos tríceps braquial, paraespinhais, tibial anterior, sóleo e gastrocnêmio quando esses estão engajados na manutenção da postura do indivíduo (BRITTON et al., 1993; FITZPATRICK et al., 1994; WELGAMPOLA & COLEBATCH, 2002; ILES et al., 2004). A Figura 3 mostra o exame VEMP galvânico sendo realizado em um paciente, com captação de resposta evocada no músculo gastrocnêmio.

Figura 3 – Potencial evocado miogênico vestibular com estímulo galvânico (VEMP galvânico) sendo realizado em paciente, com captação de resposta evocada em músculo gastrocnêmio.



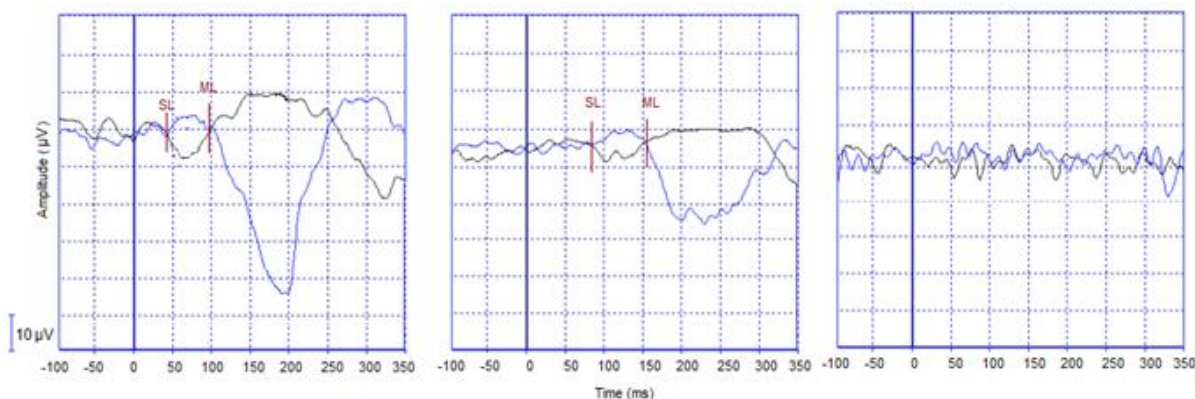
Fonte: CAPORALI et al., 2016.

Ao lado da simplicidade da técnica, encontra-se no VEMP galvânico uma resposta evocada complexa. A origem e as vias das respostas evocadas pelo estímulo vestibular galvânico ainda não estão completamente elucidadas. Admite-se que o EVG atue primariamente na região pré-sináptica dos nervos aferentes vestibulares nos órgãos otolíticos e canais semicirculares (FITZPATRICK & DAY, 2004). O estímulo despolariza as fibras vestibulares aferentes no lado do catodo e hiperpolariza no lado do anodo (KIM & CURTHOYS, 2004; CURTHOYS & MACDOUGALL, 2012). Do núcleo vestibular, a resposta evocada segue através dos tratos retículoespinal e vestibuloespinal

(FITZPATRICK & DAY, 2004). A resposta nos músculos posturais segue um padrão em indivíduos normais. Inicialmente, no traçado de eletromiografia de superfície, surge uma onda de curta latência (SL), que começa em aproximadamente 40 milissegundos (ms) nos braços e 60 ms nas pernas após o estímulo, seguida por uma onda de média latência (ML) com polaridade oposta, iniciando-se cerca de 110 ms após o início do estímulo nas pernas e 20 ms mais tarde nos braços (FITZPATRICK & DAY, 2004).

As ondas-resposta SL e a ML parecem ter origens distintas e seguir por vias diferentes, sendo que os autores não têm um consenso em relação a esses pontos. Alguns consideram a SL como uma resposta à ativação dos órgãos otolíticos que segue pelo trato reticuloespinal e a ML uma resposta oriunda dos canais semicirculares, descendo pelo trato vestibuloespinal (CATHERS et al., 2005; LIECHTI et al., 2008). Outros pesquisadores defendem o contrário (WELGAMPOLA & COLEBATCH, 2002; COHEN et al., 2012). De todo modo, as duas latências mostram evidências de, no mínimo, algum grau de independência: a SL não altera com modificações de posição de cabeça, duração de estímulo ou aumento das informações proprioceptivas ou visuais, enquanto a ML sofre todas essas influências (BRITTON et al. 1993; CATHERS et al., 2005). Além disso, a ocorrência de ML mais atrasada em membros superiores quando comparada aos membros inferiores sugere um processamento do sinal vestibular utilizando-se de informações de outras fontes, o que não ocorre na SL (BRITTON et al., 1993). A SL apresenta lentificação proporcional ao aumento da idade, mas não a ML (WELGAMPOLA & COLEBATCH, 2002). A interferência de informações somatosensoriais na intensidade das respostas do VEMP galvânico está demonstrada em trabalhos que experimentaram diferentes condições sensoriais durante o EVG. Em indivíduos com redução de informações proprioceptivas por resfriamento dos pés, a amplitude de ML aumentou (MUISE et al., 2012). Ao contrário, a amplitude de ML foi reduzida quando foi disponibilizado apoio com um dedo da mão (BRITTON et al., 1993). Dessa maneira, pode-se concluir que o exame avalia tanto as vias eferentes quanto as aferentes da medula espinal. A Figura 4 mostra os traçados normais e alterados e os pontos na curva considerados como SL e ML.

Figura 4 – Traçados das respostas evocadas do VEMP galvânico com captação em músculo gastrocnêmio, com indicação dos pontos considerados como resposta SL e resposta ML.



Nota: O primeiro gráfico mostra respostas SL e ML normais em indivíduo saudável. O segundo gráfico mostra um traçado com respostas alteradas e lentificadas em indivíduo portador assintomático do HTLV-1. O terceiro gráfico mostra ausência de respostas evocadas em paciente com HAM definida.

Fonte: LABANCA, 2016.

2.2.2 O uso do VEMP galvânico para diagnóstico de lesão medular

O uso do VEMP galvânico com o objetivo de avaliar a medula espinhal de pacientes foi primeiramente descrito por ILES e colaboradores (2004). Os autores estudaram 22 pacientes com lesões medulares (17 por trauma, dois por infecção não especificada, dois por tumor e um por isquemia), realizando a captação de resposta evocada em músculos paraespinais quando os pacientes não conseguiam permanecer em pé, e a captação em músculos tibial anterior e sóleo para os que eram capazes de permanecerem eretos. As respostas estavam ausentes abaixo do nível da lesão medular. Além desse estudo, somente mais três trabalhos publicados estudaram a medula espinhal de pacientes com mielopatia utilizando o VEMP galvânico. Liechti e colaboradores (2008) realizaram o VEMP galvânico em oito pacientes com lesão medular incompleta: um por tumor, um por isquemia e seis por trauma. Os resultados mostraram presença de respostas lentificadas nos membros inferiores dos pacientes quando comparadas ao grupo controle. Cunha e colaboradores (2013) aplicaram o exame em 13 pacientes com HAM, 13 pacientes portadores assintomáticos do HTLV-1 e 13 indivíduos controles saudáveis. Seus resultados também mostraram respostas lentificadas em

membros inferiores nos portadores assintomáticos do HTLV-1 e nos pacientes com HAM, sendo que entre esses últimos, a alteração mais encontrada foi a ausência de resposta.

O VEMP galvânico foi estudado na mielorradiculopatia esquistossomótica (MRE). Dados sobre a acurácia desse exame foram descritos em pacientes com MRE, um tipo de mielorradiculopatia que se caracteriza por um comprometimento motor importante (CAPORALI et al., 2016). Nesse estudo, as respostas evocadas dos pacientes com MRE (n=22) estavam lentificadas em comparação com controles (n=22) ($p<0,01$). Foi realizada a curva ROC das duas variáveis contínuas SL e ML. A área sob a curva ROC mostrou bom desempenho do exame na detecção de doença: 0,81 para SL e 0,86 para ML ($p<0,01$) (CAPORALI et al., 2016).

Na HAM, em tese de doutoramento defendida recentemente neste programa, LABANCA (2016) observou uma boa acurácia das variáveis do VEMP galvânico na identificação da lesão medular, com área sob a curva ROC de 0,83 ($p<0,001$) para SL e 0,86 ($p<0,001$) para ML. A sensibilidade e especificidade foram, respectivamente, de 76% e 86% para SL e de 79% e 85% para ML.

2.2.3 O uso da estimulação vestibular galvânica (EVG) para tratamento

Além da pesquisa experimental e do uso com objetivo de diagnóstico, a EVG tem potencial terapêutico, tendo sido estudada na reabilitação vestibular (CARMONA et al., 2011) e na reabilitação de pacientes com heminegligência (SCHMIDT et al., 2013; WILKINSON et al., 2014) e síndrome de *pusher* (NAKAMURA et al., 2014) secundárias a acidente vascular encefálico. Wilkinson e colaboradores (2014) avaliaram também os efeitos colaterais da EVG e não observaram evidência de aumento de náusea, cefaleia, tontura, cansaço, alterações visuais ou dor atrás das orelhas após as sessões de EVG de 1,5 mA.

Os efeitos colaterais da EVG já haviam sido estudados por UTZ e colaboradores (2011) em pessoas com sequelas de acidente vascular encefálico e pessoas saudáveis. O estudo foi conduzido com correntes de 1,5 mA, e teve uma amostra de 55 pacientes e 30 indivíduos normais. O sintoma mais comum foi leve prurido (10,2%) e formigamento (10,7%) sob os eletrodos colocados nos processos mastoideos. Não houve diferença na frequência desses efeitos colaterais entre os dois grupos. Não foi observado episódio de crise convulsiva, vertigem ou náusea.

Aprofundando a pesquisa sobre efeitos colaterais da EVG, ZHENG e colaboradores (2014) realizaram estudo experimental em ratos para avaliar se a EVG prejudicaria a memória espacial e a proliferação celular e neurogênese no hipocampo. A premissa é que estudos de ressonância magnética funcional em humanos mostraram que a EVG ativa áreas cerebrais como a ínsula posterior, regiões retro insulares, giro temporal superior, partes do lóbulo parietal inferior, sulco intraparietal, giro pós central e pré central, ínsula anterior, giro frontal inferior, giro do cíngulo anterior, *precuneus* e hipocampo (LOBEL et al., 1998; KARNATH & DIETERICH, 2006). Utilizando uma intensidade de EVG elevada para animais (0,04 mA), em pulsos de 100 ms e frequência de 5 Hertz, durante 60 minutos, sob anestesia, os pesquisadores encontraram efeitos negativos da EVG de diminuição na proliferação celular e neurogênese hipocampal, sem, contudo, se observar efeitos comportamentais e de memória espacial associados. A EVG utilizada foi suficiente para evocar nistagmo visível por microscópio em intensidade e duração maiores, em proporção, ao que é descrito nos estudos em humanos.

2.2.4 Concordância e confiabilidade do VEMP galvânico

Exames de potencial evocado são frequentemente avaliados quanto à sua concordância e confiabilidade (MACKENZIE et al., 2013; WIETHOFF et al., 2014). Aliás, todos os métodos de medição de grandezas para discriminação ou acompanhamento de condições biológicas deveriam ser analisados em relação a essas características (VET et al., 2006; BARTLETT & FROST, 2008). O VEMP com estímulo auditivo já foi avaliado nesse sentido (ISARADISAIKUL et al., 2008; VANSPAUVEN et al., 2009; BUSH et al., 2010), mas não há dados na literatura em relação ao VEMP galvânico.

Concordância (repetibilidade e reprodutibilidade) e confiabilidade são formas de se avaliar o erro de medição e seu impacto na interpretação das medidas. Qualquer medição está sujeita a vários tipos de erros que fazem com que o valor medido seja diferente do valor real. Repetibilidade dos resultados (de uma medição) é a aproximação entre os resultados de medições sucessivas de uma mesma mensuranda (grandeza a ser medida) efetuadas nas mesmas condições de medição (VOCABULÁRIO INTERNACIONAL DE METROLOGIA - VIM, 2012). Estas condições são designadas por condições de repetibilidade, que incluem: o mesmo procedimento de medição, o mesmo examinador, o mesmo instrumento de medição usado nas mesmas condições, o mesmo local. A repetição deve ser realizada durante um curto

intervalo de tempo. Reprodutibilidade dos resultados (de uma medição) é a aproximação entre os resultados das medições da mesma mensuranda efetuadas com alteração das condições da medição (VIM, 2012). As alterações que se consideram incluem o princípio e o método de medição, o examinador, o instrumento, o padrão de referência, o local, as condições de utilização e o tempo. Repetibilidade e reprodutibilidade são agrupadas no conceito de concordância, isto é, o quanto estão distantes entre si as medidas repetidas de uma mesma grandeza. Já a confiabilidade correlaciona a magnitude do erro de medição das medidas repetidas com a variabilidade inerente, livre de erros, entre indivíduos. Ela, portanto, depende da variabilidade da população (ou da amostra). Se a confiabilidade é elevada, os erros de medição são pequenos em relação às reais diferenças entre os indivíduos da população/amostra, e o método consegue diferenciar bem os indivíduos apesar do erro de medida (BARTLETT & FROST, 2008).

O VEMP galvânico é um método que mede o tempo, em milissegundos, de um reflexo postural captado por eletromiografia de superfície em membros inferiores em resposta à estimulação dos núcleos vestibulares. Vários fatores podem levar a uma variabilidade/erro de medição desse tempo (latência) medido: 1) informações sensitivas como a visão, a audição e a propriocepção podem alterar o tempo do reflexo muscular e, para reduzi-las, o ambiente deve estar silencioso e o paciente deve se manter na postura correta para o exame, de olhos fechados (GRILLNER et al., 1971; BRITTON et al., 1993; DAY & COLE, 2002; CATHERS et al. 2005; MUISE et al., 2012); 2) variações biológicas circadianas dos indivíduos; 3) a calibração do instrumento de medição – no equipamento em questão existem duas possíveis fontes de erro: a acurácia das grandezas do estímulo, que são a corrente elétrica e o tempo (energia); a acurácia das grandezas medidas, que são a tensão (μV) e o tempo (latências); 4) variabilidade das interpretações do examinador ao analisar a curva de eletromiografia; 5) variabilidade das interpretações de examinadores diferentes.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o valor do potencial evocado miogênico vestibular gerado por estimulação galvânica (VEMP galvânico) para acompanhar a função medular de indivíduos infectados pelo HTLV-1 portadores assintomáticos, com possível HAM e com HAM definida.

3.2 Objetivos Específicos

Primeira etapa:

- a) Avaliar a concordância e a confiabilidade intra-examinador do VEMP galvânico
- b) Avaliar a concordância e a confiabilidade inter-examinador do VEMP galvânico

Segunda etapa:

- c) Avaliar a evolução das ondas-resposta (SL e ML) do VEMP galvânico nos grupos estudados.
- d) Avaliar a correlação entre as alterações no VEMP galvânico nos grupos estudados e a pontuação de sintomas neurológicos de cada participante na Escala de Incapacidade Funcional Expandida (*Expanded Disability Status Scale* - EDSS) e Escala de Incapacidade Motora de Osame (Osame's motor disability scale – OMDS)

4 METODOLOGIA

4.1 Aspectos éticos

Este estudo segue as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa envolvendo seres humanos da Resolução nº 466/12 do Ministério da Saúde do Brasil. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisas da UFMG (COEP), número 266/05, e pelo Comitê de Ética em Pesquisas da Fundação Hemominas (CEP), número 131 (ANEXOS 1 e 2). Todos os participantes deram seu consentimento livre e esclarecido através da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXOS 3 e 4).

4.2 Delineamento do estudo

Na primeira etapa foi realizado estudo observacional transversal, de avaliação de concordância e confiabilidade intra-examinador (repetibilidade) e inter-examinador de teste diagnóstico. A segunda etapa consistiu de estudo observacional longitudinal, com avaliação no tempo 1, realizada no estudo transversal, seguida de avaliação no tempo 2, após o seguimento de 11 a 36 meses dos pacientes.

4.3 Grupos de participantes

Foram incluídos no estudo indivíduos pertencentes aos seguintes grupos:

- Indivíduos assintomáticos infectados pelo HTLV-1;
- Indivíduos com diagnóstico de possível HAM, segundo os critérios de Castro-Costa e colaboradores (2006);
- Indivíduos com diagnóstico definido de HAM, segundo os critérios de Castro-Costa e colaboradores (2006);
- Indivíduos controles saudáveis com sorologia negativa para HTLV-1.

Os pacientes com infecção por HTLV-1, com ou sem mielopatia, foram recrutados consecutivamente entre os pacientes da coorte do Grupo Interdisciplinar de Pesquisa em HTLV (GIPH) a partir da lista de contatos da coorte. Apesar de não ter havido pareamento entre grupos, os indivíduos saudáveis foram recrutados entre os doadores de sangue

soronegativos da Fundação Hemominas pelos alunos de iniciação científica, que tinham a orientação de selecionar preferencialmente indivíduos entre 50 e 60 anos de idade e na proporção de 2:1 a 3:1 mulher/homem, para o controle de possíveis variáveis de confusão decorrentes da seleção amostral.

4.4 Critérios de inclusão

- Grupo de portadores assintomáticos do HTLV-1:
Sorologia positiva para o HTLV-1 tanto no teste de Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) quanto Western Blot (WB) e a detecção do DNA proviral através da reação em cadeia de polimerase (PCR). Ausência de sintomas clínicos de HAM de acordo com os critérios propostos pela Organização Mundial de Saúde (OMS) adaptados por Castro-Costa e colaboradores (2006).
- Grupo HAM possível (pHAM):
Sorologia positiva para o HTLV-1 tanto no ELISA quanto WB e PCR positivo. Presença de sintomas clínicos de HAM que possibilitam o diagnóstico possível, mas não definido, de HAM, de acordo com os critérios propostos pela OMS adaptados por Castro-Costa e colaboradores (2006).
- Grupo HAM definida:
Sorologia positiva para o HTLV-1 tanto no ELISA quanto WB e PCR positivo. Diagnóstico definido de HAM, de acordo com os critérios propostos pela OMS adaptados por Castro-Costa e colaboradores (2006).
- Grupo controle de indivíduos saudáveis:
Doadores saudáveis soronegativos conforme critérios do Hemominas, ou seja, que não possuem diagnóstico de HTLV-1, hepatite B e C, infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), sífilis ou doença de Chagas, não-usuários de drogas.

4.5 Critérios de exclusão

- Idade menor que 18 anos;
- Infecção por HIV, Hepatite C ou sífilis;
- Infecção por HTLV-2;
- Sinais ou sintomas neurológicos detectados na avaliação clínico-neurológica (para o caso dos indivíduos soronegativos controles, somente);
- Episódios recorrentes de vertigem ou episódio único de vertigem com duração maior que 30 minutos ou história de doença vestibular já diagnosticada previamente;
- Outra doença neurológica previamente diagnosticada, que não seja HAM;
- Incapacidade de completar o exame VEMP galvânico na posição correta;
- Gestantes;
- Pacientes com implantes de dispositivos como marca-passos ou placas metálicas ortopédicas;
- A não realização da segunda avaliação no caso dos participantes do estudo longitudinal.

4.6 Procedimentos, local da pesquisa e equipamentos

No dia das avaliações, foram fornecidas todas as informações sobre o estudo, sendo aplicado o TCLE e entregue uma cópia aos participantes. A seguir, um instrumento de coleta de dados, elaborado para este estudo (ANEXO 7), foi aplicado a todos os participantes com o objetivo de identificar dados demográficos e clínicos. Os participantes foram, em seguida, submetidos a exame clínico neurológico e ao VEMP galvânico com captação de resposta evocada em membros inferiores. O protocolo foi inteiramente aplicado pela pesquisadora autora desta tese na entrada e após 11 a 36 meses de estudo, entre 2013 e 2017, no ambulatório do Hospital São Geraldo, anexo do Hospital das Clínicas da UFMG, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil.

4.6.1 Procedimentos do VEMP galvânico

O equipamento do VEMP galvânico utilizado para geração de estímulo e captação da resposta foi o modelo EvP4/ATCPlus (de *Evoked Potencial* com 4 canais / Audiômetro de Tronco Cerebral) (Contronic Ltda., Pelotas, Brasil) conectado a um computador portátil alimentado por bateria, sem ligação à rede elétrica, no qual o software EvP4/ATCPlus estava

instalado. Eletrodos de superfície, autoadesivos, de 3 cm de diâmetro (modelo CF3200-Valutrode, Axelgaard, Fallbrook, CA, Estados Unidos da América) foram posicionados sobre os processos mastoideos do osso temporal do participante, anodo de um lado e catodo do outro, oferecendo uma estimulação binaural e bipolar. O estímulo consistiu de uma corrente direta, monofásica, retangular, com intensidade de 2 mA e 400 ms de duração (BRITTON et al., 1993; FITZPATRICK et al., 1994; LIECHTI et al., 2008; CUNHA et al., 2013).

Cada exame foi constituído de 30 estimulações, sendo 15 realizadas com o anodo na orelha direita e 15 com anodo na orelha esquerda. Os intervalos entre os estímulos foram randomizados entre 4 e 6 segundos. O exame foi então repetido uma vez, imediatamente após o término da primeira aplicação, nas mesmas condições, para a avaliação da repetibilidade.

Para a realização do exame, os indivíduos permaneceram em pé, sobre uma superfície plana, com os olhos fechados, pés descalços e juntos, com o corpo levemente inclinado para frente, promovendo a contração do músculo gastrocnêmio. Os participantes foram instruídos a girar a cabeça em aproximadamente 90° no plano sagital, para o lado contralateral ao membro inferior a partir do qual os sinais das respostas seriam captados, já que as respostas são mais robustas no membro inferior contra lateral à direção da rotação cefálica (BRITTON et al., 1993).

A atividade muscular foi captada por meio de eletrodos autoadesivos (modelo 2223BRQ, 3M, Saint Paul, MN, Estados Unidos da América). O par de eletrodos de registro foi colocado verticalmente 5 cm abaixo da fossa poplíteia e com seus centros distantes aproximadamente 5 cm um do outro, sobre a cabeça medial do músculo gastrocnêmio. O eletrodo de referência foi colocado na parte posterior da coxa, aproximadamente 5 cm acima do eletrodo de registro. O VEMP galvânico foi realizado primeiro no membro inferior esquerdo e então no membro inferior direito. A realização do exame completo de um paciente durou cerca de 20 minutos em média.

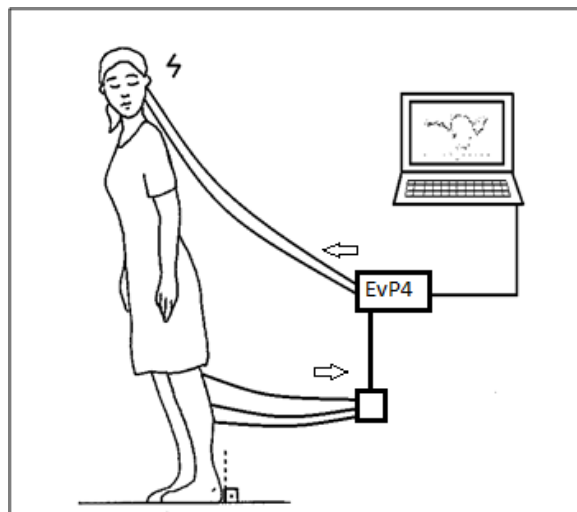
Os sinais de atividade muscular foram captados em um canal por um amplificador composto por etapa diferencial com ganho 10, um filtro passa-altas de primeira ordem com frequência de corte de 1 Hz, um filtro com notch em 60 Hz e fator Q igual a dois e finalmente por um filtro passa-baixas de segunda ordem com frequência de corte de 2 kHz. Os sinais produzidos por esta etapa analógica foram submetidos a um amplificador com ganho programável por software e posteriormente convertidos ao domínio digital através de um conversor A/D com resolução de 16 bits e taxa de amostragem de 5.000 amostras/s. Já no

domínio digital os sinais foram novamente filtrados por um passa-altas IIR com ordem 2 e frequência de corte em 10 Hz e um passa-baixas IIR com ordem 2 e frequência de corte em 1 kHz. Os sinais resultantes foram retificados em onda completa. A duração de cada época coletada foi de 500 ms, sendo 100 ms pré-estímulo e 400 ms pós-estímulo. As épocas correspondentes a 15 estímulos consecutivos e de mesma polaridade foram promediadas, resultando em um traçado final.

Os traçados puderam ser observados na tela do computador, durante a execução do exame, sendo gravados para posterior análise pelos examinadores, sob cegamento quanto ao grupo a que pertencia o participante. A Figura 5 apresenta um esquema do procedimento do VEMP galvânico. O protocolo detalhado está disponível em repositório de protocolos no *site* de internet www.protocols.io, endereço: [dx.doi.org/10.17504/protocols.io.nxbdfin](https://doi.org/10.17504/protocols.io.nxbdfin).

A calibração do equipamento EvP4 foi realizada anualmente, pelo fabricante, conforme as orientações do mesmo.

Figura 5 – Esquema do procedimento do potencial evocado miogênico vestibular galvânico (VEMP galvânico).



Nota: A estimulação vestibular galvânica, oferecida através de eletrodos adesivos colocados sobre os processos mastoideais, um atrás de cada orelha, é gerada pelo aparelho EvP4, ligado ao computador portátil. O aparelho também capta as respostas musculares evocadas através de dois eletrodos de superfície adesivos posicionados sobre o músculo gastrocnêmio. Um terceiro eletrodo de referência para a captação de sinais de atividade muscular é colocado

mais acima, na parte posterior da coxa. O paciente permanece de pé, com pés descalços e juntos, com o corpo inclinado ao máximo para frente, de olhos fechados e cabeça girada para o lado contralateral da perna examinada, a aproximadamente 90° dos pés. Os traçados das respostas evocadas podem ser observadas na tela do computador.

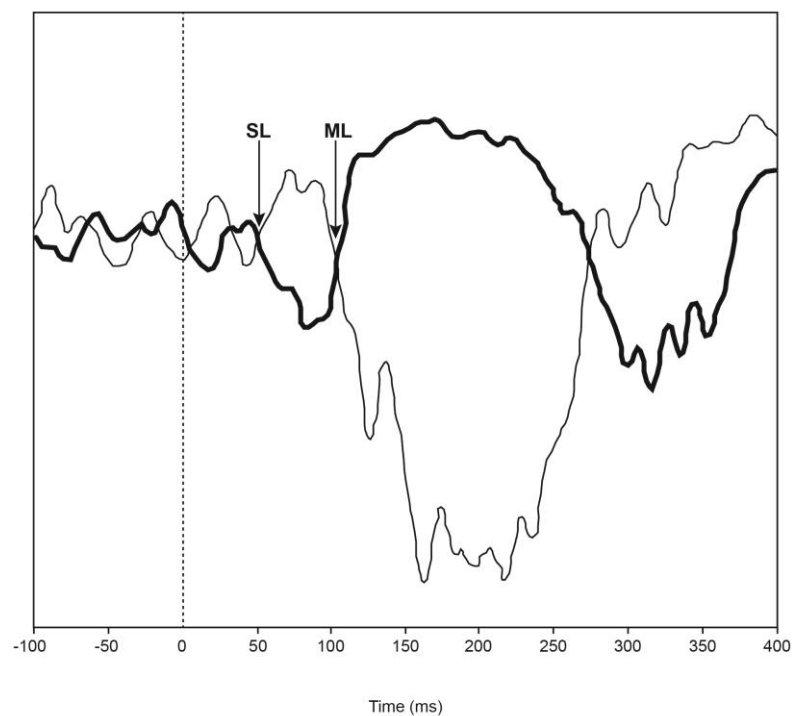
Fonte: da autora.

4.7 Variáveis avaliadas

4.7.1 Variáveis do VEMP galvânico

O traçado das respostas evocadas d VEMP galvânico, captado em músculo gastrocnêmico, caracteriza-se por duas ondas, sendo a primeira chamada de “resposta de curta latência” (*short latency* - SL) e a segunda chamada de “resposta de média latência” (*medium latency* – ML). As variáveis do VEMP galvânico, aqui estudadas, foram as latências, em milissegundos, de início da SL e da ML, visualizadas na Figura 6. O início da primeira onda caracteriza a variável que aqui chamamos de SL e o início da segunda onda caracteriza a ML.

Figura 6 – Latências das respostas eletromiográficas (SL e ML) captadas músculo gastrocnêmio no exame potencial evocado miogênico vestibular galvânico.



O traçado de linha fina corresponde à resposta ao estímulo galvânico com configuração catodo em orelha direita e o traçado de linha grossa, à configuração catodo em orelha esquerda. No gráfico, a abscissa indica o tempo em ms e a ordenada indica o potencial em uV. O início do estímulo é indicado pela linha vertical pontilhada passando pelo tempo zero. A curta latência (SL) e a média latência (ML) correspondem aos pontos em que invertem com a inversão da polaridade, sendo que SL inicia em torno de 50-60 ms após o estímulo, e ML em torno de 100 ms.

Fonte: CUNHA et al., 2013.

A análise foi baseada em critérios previamente descritos (BRITTON et al., 1993; MUISE et al., 2012), isto é:

Critérios para definição de SL:

- onda com início em torno de 40 a 90 ms, que inverte com a inversão da polaridade do estímulo;
- quando a perna analisada é a esquerda, a onda é positiva (para baixo) se o anodo está na orelha esquerda, e negativa (para cima) se o anodo está na orelha direita; o oposto ocorre quando a perna analisada é a direita;
- onda com polaridade oposta à ML e com duração e amplitude menores que a ML.

Critérios para definição de ML:

- onda com início em torno de 90 ms ou mais, que inverte com a inversão da polaridade do estímulo;
- quando a perna analisada é a esquerda, a onda é negativa (para cima) se o anodo está na orelha esquerda, e positiva (para baixo) se o anodo está na orelha direita; o oposto ocorre quando a perna analisada é a direita;
- onda com polaridade oposta à SL, e com duração e amplitude maiores que a SL.

Critérios para definição de atraso nas SL e ML:

Como valor de corte para definição de atraso das latências SL e ML, utilizaram-se dois desvios padrões para cima das médias de SL e ML entre indivíduos normais descritas no estudo de Cunha e colaboradores (2013), i.e., 63 ms para SL e 132 ms para ML. Latências com valores acima desses descritos foram consideradas atrasadas e, portanto, anormais.

Critérios para definição de ausência de SL e ML:

Também foi considerado como resposta anormal a ausência de SL ou ML, segundo os critérios a seguir:

- ausência de cruzamento e inversão das polaridades dos traçados provenientes da estimulação com ânodo na direita e ânodo na esquerda.
- ausência de um claro deslocamento da resposta a partir da linha média, formando picos positivos ou negativos em consonância com a inversão da polaridade sob as duas condições de estimulação.

Condições de análise das variáveis do VEMP galvânico:

As análises dos exames foram realizadas de maneira cega por dois examinadores independentes, sem que os mesmos soubessem as manifestações clínicas ou o grupo a que pertencesse o participante. Ambos os examinadores foram treinados pela mesma pessoa, em épocas diferentes, utilizando o mesmo material (equipamento, eletrodos, software). Previamente ao estudo, um dos examinadores tinha uma experiência de 1000 traçados analisados e o outro contava com uma experiência de 500 traçados de treinamento.

4.7.2 Variáveis clínicas

As variáveis independentes coletadas foram: dados demográficos, dados da entrevista clínica, dados do exame clínico, dados do exame neurológico completo, escalas EDSS e OMDS (ANEXOS 5, 6 e 7). O exame clínico e neurológico foi realizado pela autora desta tese.

4.8 Tamanho da amostra

Considerando o estudo de Shoukri e colaboradores (2004), para que um estudo de concordância e confiabilidade alcance resultados confiáveis com duas medidas repetidas, em um nível de significância de 5% e um poder de teste de 80%, é necessária uma amostra mínima de 86 participantes. No presente estudo, a amostra total incluiu 96 participantes. Como as variáveis de interesse (SL e ML) foram coletadas de ambas as pernas de cada

indivíduo, uma randomização foi realizada pelo programa estatístico de computador para selecionar qual perna de cada participante faria parte das análises.

Para o estudo observacional prospectivo, o tamanho da amostra foi escolhido com o objetivo de encontrar um efeito de 0,5 entre duas amostras pareadas (tempo 1 e tempo 2) com testes não paramétricos, considerando um poder de 80% e um nível de significância de 5%. A amostra calculada foi de 35 participantes, mas este estudo incluiu 51 considerando a possibilidade de perda de 30% da amostra no seguimento.

4.9 Análise estatística

O banco de dados foi alimentado com dupla entrada utilizando-se o programa EpiData 3.0 (EpiData Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis System. EpiData Association, 2000-2008, Odense, Dinamarca). Foi utilizado o programa SPSS 15.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, Estados Unidos da América) para descrição das variáveis e realização de análise estatística. Como algumas variáveis mostraram distribuição não normal pelo teste de normalidade de Shapiro-Wilk, optou-se por padronizar a utilização de testes não paramétricos para todas as variáveis: teste de Kruskal-Wallis para comparação entre grupos, teste pareado de Wilcoxon para comparação entre tempo 1 e tempo 2 intra grupos. Para variáveis nominais foi utilizado o teste do Qui-quadrado. Para teste de correlação entre variáveis ordinais (EDSS, OMDS e SL e ML categorizadas em “normal”, “atrasada” e “ausente”) foi utilizado o teste de Spearman,

A concordância intra-examinador (duas medidas repetidas sob condições idênticas – réplica do exame, mesmo examinador, mesma perna) e inter-examinador (dois examinadores diferentes) do exame VEMP galvânico foram avaliadas através de medidas de concordância a seguir:

- erro da medição = desvio padrão (DP) das diferenças pareadas/ $\sqrt{2}$
- coeficiente de repetição (CR) = DP das diferenças pareadas multiplicado por 1,96

O CR mostra a variação esperada dos resultados para 95% das medidas repetidas, é expresso na mesma unidade de medida do resultado e sua interpretação depende do julgamento clínico. É também chamado de menor diferença real.

A confiabilidade do exame foi avaliada através do coeficiente de correlação intraclass (ICC), que, acima de 0,70, indica boa confiabilidade (VET et al., 2006; BARTLETT & FROST, 2008). Após a categorização das variáveis SL e ML em normal, atrasada e ausente, foi calculado o coeficiente Kappa, que acima de 0,60 é considerado aceitável (MCHUGH 2012).

O nível de significância estatística utilizado foi de 5%.

5 RESULTADOS

5.1 Artigo original com os resultados da primeira etapa da tese, submetido à revista PLOS ONE sob o código PONE-D-18-14141.

Intrarater and interrater agreement and reliability of Vestibular Evoked Myogenic Potential triggered by Galvanic Vestibular Stimulation (galvanic-VEMP) for HTLV-1 associated myelopathy testing

Short title: Agreement and reliability of galvanic-VEMP in HAM

Júlia Fonseca de Moraes Caporali¹, Ludimila Labanca¹, Kyonis Rodrigues Florentino¹, Bárbara Oliveira Souza¹, Denise Utsch Gonçalves^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical, Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

* Corresponding author E-mail: denise@medicina.ufmg.br (DUG)

Author summary

In the world, it is estimated that 5 to 20 million people are infected with the human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1). Up to 4% of these individuals are affected with the HTLV-1 associated myelopathy (HAM). HAM is a chronic progressive spinal cord disease that causes the impairment of the gait and can lead to wheelchair dependence in ten to twenty years. For the time being, there is no effective treatment for HAM. However, envisioning future therapeutic alternatives, research is ongoing to identify exams that are capable of making early diagnoses and providing information about the disease activity for monitoring purposes. The vestibular evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation (galvanic-VEMP) is one of the candidate tools for that role. Galvanic-VEMP is a non-invasive, simple, and inexpensive exam that evaluates the motor function responsible for the maintenance of body balance and posture. To validate the galvanic-VEMP as a diagnostic tool in neurology practices, it is essential to first determine its precision, i.e., to study the agreement and reliability of this exam, which was the objective of our work.

Abstract

Background: The vestibular evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation (galvanic-VEMP) has been used to assess the function of the vestibulospinal motor tract and is a candidate biomarker to predict and monitor the human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) associated myelopathy (HAM). This study determined the agreement and reliability of this exam. **Methods:** Galvanic-VEMP was performed in 96 participants, of which 24 patients presented HAM, 27 HTLV-1-asymptomatic carriers, and 45 HTLV-1-negative asymptomatic controls. Galvanic vestibular stimulation was achieved by passing a binaural and bipolar current at a 2 mA intensity for 400 ms between the mastoid processes. Galvanic-VEMP electromyographic wave responses of short latency (SL) and medium latency (ML) were recorded from the gastrocnemius muscle. Intrarater (test-retest) and interrater (two independent examiners) agreement and reliability were assessed by standard measurement error (SEM), repeatability coefficient (RC), intraclass correlation coefficient (ICC), and Kappa coefficient. **Results:** In the total sample (n=96), SL and ML medians were 56 ms (IQR 52-66) and 120 ms (IQR 107-130), respectively. The intrarater repeatability measures for SL and ML were, respectively: SEM of 6 and 8 ms; RC of 16 and 22 ms; ICC of 0.80 ($p<0.001$) and 0.91 ($p<0.001$); and a Kappa coefficient of 0.53 ($p<0.001$) and 0.82 ($p<0.001$). The interrater reproducibility measures for SL and ML were, respectively: SEM of 3 and 10 ms; RC of 8 and 27 ms; ICC of 0.95 ($p<0.001$) and 0.86 ($p<0.001$); and a Kappa coefficient of 0.77 ($p<0.001$) and 0.88 ($p<0.001$). **Conclusion:** Galvanic-VEMP is a reliable and reproducible method to define the integrity of the vestibulospinal tract. Longitudinal studies will clarify its validity in the clinical context, aimed at achieving an early diagnosis and the monitoring of HAM.

Keywords: HTLV-1; Myelopathy, HTLV-1-Associated; Spinal Cord Diseases; Vestibular-Evoked Myogenic Potential (VEMP); Galvanic vestibular stimulation (GVS); Electrophysiology; Reproducibility of Results.

Introduction

The vestibular evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation (galvanic-VEMP) is an exam that assesses the function of the vestibulospinal motor tract [1] and has been used as an auxiliary tool in spinal cord diseases caused by tumor, trauma, and infection [2-5]. In human T-cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy (HAM), galvanic-VEMP disclosed an electrophysiological altered response that ranged from a delayed latency among the asymptomatic carriers to a complete absence of response in those with established myelopathy [4].

HAM is an insidious and irremissible meningomyelitis that affects 1-4% [6-10] of the 5-20 million people infected with HTLV-1 worldwide [11, 12]. This neurologic disease is more frequent in women than in men (2:1 to 3:1), and its symptoms onset is most often found in the fifth decade of life [13-17]. The first symptoms of HAM are weakness of the lower limbs, lumbar pain, dizziness, and urinary and sexual impairments [17, 18-21]. Sensory changes may also be an early complaint [22]. The progression is characterized by spastic paraparesis and lower limb hyperreflexia, Babinski sign, impaired vibratory sensitivity, positive Romberg test, and abnormal gait. After 10 years of symptoms, 20-50% of individuals with HAM become wheelchair-dependent [19, 23-25]

HAM occurs due to an unbalanced inflammatory response to HTLV-1 infection [26-29]. The disease has a biphasic pathology pattern [30] in which the inflammatory phase is followed by an atrophic stage. The therapeutic strategies have been developed based mainly on inflammation control in the first phase, since irreversible neuron damage characterizes the later periods of the disease. Thus, the earlier the diagnosis, the better the chance of obtaining a good response to treatment [31]. In this scenario, along with the immunologic molecules, the neurophysiology exams, such as galvanic-

VEMP, are candidate biomarkers to predict HAM in its subclinical stage and monitor the disease activity during treatment [4].

Vestibular evoked myogenic potential (VEMP) is an electrophysiological test in which a stimulus is offered to the vestibular system, triggering several interconnected motor responses comprising ocular and postural muscles. In VEMP triggered by galvanic vestibular stimulation (GVS), an electric stimulus is applied to the labyrinth organs through surface electrodes positioned behind the ears. The stimulus generates a dipole between the labyrinths, which is interpreted by the CNS as a true head movement [1, 32]. Cathodal galvanic stimuli depolarize, whereas anodal stimuli hyperpolarize afferent vestibular fibers [33, 34]. The unanticipated vestibular stimulus elicits a protective reflex in all muscles engaged in posture control, leading the body to temporarily sway toward the anode. The motor reflexes that are evoked to maintain the postural equilibrium can be captured by surface electromyography (EMG) in the body muscles involved in one's posture. Galvanic-VEMP evaluates the brainstem function, as other VEMPs do [35], and further assesses the vestibulospinal motor tract. The chosen muscle to record the electrophysiological sign defines the tested level of the spine. The assessment of the spine is performed by recording the response in the sternocleidomastoid muscle for the cervical level, the paraspinal muscles for the thoracic level, and the lower limb muscles, such as soleus or gastrocnemius, for the lumbar spinal level [1, 32]. Graphically, the galvanic-VEMP response taken from gastrocnemius muscle is characterized by a biphasic wave, with a short-latency (SL) response around 60 ms, followed by a medium-latency (ML) response around 100 ms [1, 32, 36, 37]. A change in the waveform and the delay or the absence of any of the waves are considered altered results [2-5].

Galvanic-VEMP proved to be quite accurate in identifying spinal cord impairments based on the ROC curve in individuals with myeloradiculopathy caused by *Schistosoma mansoni* [5]. However, to the best of our knowledge, the reliability and agreement of this exam have not been checked properly in prior studies, and this assessment is essential when the exam is used for diagnostic and monitoring purposes. This study determined the interrater and the intrarater agreement and reliability of galvanic-VEMP in individuals with HAM, asymptomatic HTLV-1 infection and controls.

Methods

Ethical statement

This study follows the ethical principles expressed in the Declaration of Helsinki [38]. It was approved by the Research Ethics Committees of Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) and of the Hemominas Blood Transfusion Agency, in Brazil, under the protocol numbers, respectively, of 266/05 and 131. All participants gave their written informed consent.

Study design and setting

This is a repeatability and reproducibility study about the use of galvanic-VEMP to test HAM, which was conducted between 2014 and 2017 in the UFMG School of Medicine, Belo Horizonte, Brazil.

Subjects and sample size

The individuals were recruited from the open cohort of the Interdisciplinary HTLV Research Group (GIPH), formed in 1997, which has been following the individuals from 1997 to the present day [39-42]. The inclusion criteria for the infected individuals were positive serology in Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Western Blot (WB), as well as positive Protein Chain Reaction (PCR), for HTLV-1. The HTLV-1 infected individuals are divided into asymptomatic carriers (AC) and individuals with HAM, according to the revised diagnostic criteria by Castro-Costa et al. [43] (Table 1). The controls tested negative for HTLV-1. The exclusion criteria for all groups were: under 18 years of age, uncontrolled acute or chronic diseases, HIV coinfection, suspected or confirmed pregnancy, metallic prosthesis, being unable to stand in the upright position during the galvanic-VEMP procedures, and any neurologic diagnosis other than HAM. All the subjects were submitted to a clinical interview and neurological examination before undergoing galvanic-VEMP procedures.

Considering the study by Shoukri et al. (2004) [44], for a repeatability study to achieve reliable results with two repeated measurements, a significance level of 5%, and a test power of 80%, a minimum sample of 86 participants is necessary. In the present study, the total sample included 96 participants. Since the interest variables (SL and ML) were collected from both legs of each individual, a randomization, performed by the statistical computer program, was performed to select which leg of each participant would be part of the analyses.

Table 1. Diagnostic Criteria of HTLV-1-Associated Myelopathy (HAM) according to Castro-Costa et al [43].

DEFINITE 1. A non-remitting progressive spastic paraparesis with sufficiently impaired gait to be perceived by the patient. Sensory symptoms or signs may or may not be present. When present, they remain subtle and without a clear-cut sensory level. Urinary and anal sphincter signs or symptoms may or may not be present. 2. Presence of HTLV-I antibodies in serum and CSF confirmed by Western blot and/or a positive PCR for HTLV-I in blood and/or CSF. 3. Exclusion of other disorders that can resemble HAM.
PROBABLE 1. Monosymptomatic presentation: spasticity or hyperreflexia in the lower limbs or isolated Babinski sign with or without subtle sensory signs or symptoms, or neurogenic bladder only confirmed by urodynamic tests. 2. Presence of HTLV-I antibodies in serum and/or CSF confirmed by Western blot and/or a positive PCR for HTLV-I in blood and/or CSF. 3. Exclusion of other disorders that can resemble HAM.

POSSIBLE

1. Complete or incomplete clinical presentation.
2. Presence of HTLV-I antibodies in serum and/or CSF confirmed by Western blot and/or a positive PCR for HTLV-I in the blood and/or CSF.
3. Disorders that can resemble HAM have not been excluded.

Measurement process

The galvanic-VEMP equipment used for stimulation and recording was the EvP4 / ATCPlus model (Contronic Ltda., Pelotas, Brazil) connected to a battery-powered portable computer. Self-adhesive surface electrodes, 3 cm in diameter (model CF3200-Valutrode, Axelgaard, Fallbrook, CA, USA) were positioned on the participant's mastoid processes, anode on one side and cathode on the other, offering bipolar binaural stimulation. The stimulus was generated by a constant current stimulator, consisting of a single-phase, rectangular, direct current with an intensity of 2 mA for 400 ms [3-5].

Each examination consisted of 30 stimulations, 15 of which were performed with the anode in the right ear and 15 with anode in the left ear. Intervals between the stimuli were randomized between 4 and 6 seconds. The test was then immediately repeated once to evaluate repeatability.

To perform the test, the subjects stood on a hard flat surface with their eyes closed, barefoot, with their body slightly bent forward, promoting contraction of the gastrocnemius muscle. Participants were instructed to turn their heads approximately 90° in the sagittal plane to the contralateral side of the lower limb from which the EMG signals would be drawn [36].

The EMG activity was recorded by a pair of self-adhesive electrodes (model 2223BRQ, 3M, Saint Paul, MN, USA) placed on the medial head of the gastrocnemius muscle, and with their centers approximately 5 cm distant from one another. The reference electrode was placed on the back of the thigh, approximately 5cm above the recording electrode (Fig 1). Galvanic-VEMP was performed first

on the left lower limb and then on the right lower limb. Performing the complete examination of a patient lasted about 20 minutes on average.



Fig 1 Vestibular-evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation procedure. The standing position of the patient (barefoot on a hard flat surface with eyes closed, feet close together and body leaning forward in order to cause the gastrocnemius muscle contraction); the equipment used for stimulus generation (a); the electrode positions for GVS (b); the electrode position for electromyography on the gastrocnemius muscle (c); the equipment for signal processing (d); and the laptop (e) connected to (a) and (d).

The EMG signals were measured, rectified, filtered between 10Hz and 1000Hz, and scanned at a sampling frequency of 5 kHz, using one register channel. The data were collected during a period of 500 ms, beginning at 100 ms before the galvanic stimulus [4]. The EMG responses to 15 consecutive stimuli with the same polarity setting were averaged, resulting in a final tracing. The tracings could be observed online during the execution of the exam and were recorded for further analysis by the examiners, under blindness as to the group to which the participant belonged.

The measured variables were the latencies of each of the two components of the galvanic-VEMP wave. The rater analysis was based on previously described criteria [36, 45], i.e.: SL is the wave starting at about 60ms and ML is the following wave, with opposite polarity, starting at about 100ms. SL and ML reverse with the inversion of stimulus polarity. The responses were considered to be changed if they were delayed, absent, or with abnormal tracing. Delay was considered when response onset was later than 2 standard-deviations over the mean found in healthy controls [4], i.e., 63 ms for SL and 132 ms for ML. Figure 2 illustrates the normal, delayed, and abnormal tracing patterns.

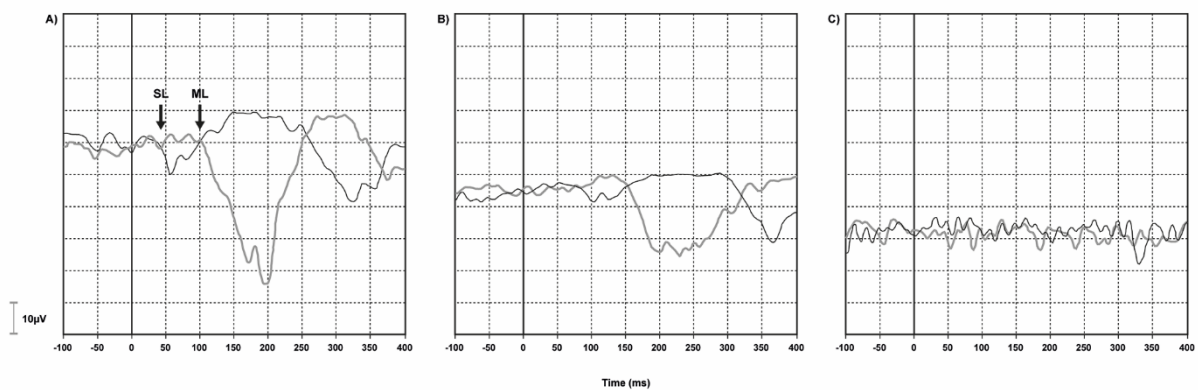


Fig 2. Normal, delayed, and abnormal response patterns in vestibular-evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation (galvanic-VEMP). (A) Normal electromyographic (EMG) response recorded from the gastrocnemius muscle. The black line indicates the trace with the cathode on the right and the anode on the left, whereas the gray line indicates the opposite stimulation polarity. SL (~50 ms) and ML (~100 ms). (B) Delayed EMG responses. SL ~80 ms and ML ~150 ms. (C) Absent EMG response, no SL and no ML.

For a more detailed description of this test, go to www.protocols.io, [dx.doi.org/10.17504/protocols.io.nxbdfn](https://doi.org/10.17504/protocols.io.nxbdfn).

Statistical analysis, agreement and reliability parameters

This study analyzed the agreement and reliability of measurements of the EMG responses of galvanic-VEMP. For each of the two EMG responses (SL and ML), the estimates were calculated based on two measurements done (a) in repeatability conditions, i.e., two immediately repeated measurements in the same patient, analyzed by the same examiner – test-retest repeatability or intrarater repeatability (b) by two experienced independent examiners, blinded to the clinical condition of the participant – interrater reproducibility.

The calculated agreement parameters included: standard error of measurement (SEM) = SD of the paired differences / $\sqrt{2}$, within-individual variation, limits of agreement, and the coefficient of repetition (CR) = SD of paired differences x 1.96. SEM and CR represent the measurement error intrinsic to the measurement method and take into consideration the within-subject variation. The CR shows the expected variation of the results for 95% of the repeated measures, which is expressed in the same unit of measure. It is also known as the Smallest Real Difference (SRD).

The reliability of the test was assessed by the intraclass correlation coefficient (ICC) and the Kappa coefficient. ICC indicates good reliability when equal to or higher than 0.70, [46, 47]. The Kappa coefficient was considered acceptable if greater than 0.6 [48]. The Kappa coefficient was calculated after the categorization of the variables into normal, delayed, and absent, following the criteria described in the previous section.

The database was fed with double input using the EpiData 3.0 program (EpiData Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis System, EpiData Association, 2000-2008, Odense, Denmark). The SPSS 15.0 program (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) was used to describe the variables and conduct statistical analysis. Continuous variables of interest were tested for normality with Shapiro-Wilk test and showed a non-normal distribution. The non-parametric Kruskal-Wallis test was used to compare continuous variables between groups. For categorized variables, a chi-square test (Pearson's or Fisher's) was used. The significance level was 5%.

Results

From a total of 100 individuals selected for the study, four were excluded: one reported a metal plaque implant in the skull, one had HIV infection, and we lost the galvanic-VEMP tracings in two patients due to interference in the software device. Of the 96 participants who completed the entire protocol, 45 were controls (CG) 27 were asymptomatic HTLV-1 carriers (AC), and 24 were individuals with HAM. The mean age was 55, 58, and 58 years in the control, AC, and HAM groups, respectively, with no statistical difference ($p=0.552$). The proportion of male gender was 40, 41, and 29 percent in the control, AC, and HAM groups, respectively, with no statistical difference ($p=0.624$). The comparison of the continuous and categorized (normal, delayed, or absent) galvanic-VEMP responses (SL and ML) are shown in Table 2. In the HAM group, the SL showed a tendency toward higher values ($p=0.089$) and was more frequently delayed and absent ($p=0.067$). The ML was delayed and more frequently absent in the HAM group when compared to the AC and control groups ($p<0.001$).

Table 2. Galvanic-VEMP variables (SL and ML): comparison between groups

Variable		HTLV-1 negative controls (n=45)	Asymptomatic carriers (n=27)	HAM (n=24)	p-value
SL	Median (IQR)	56 (53-64)	53 (52-63)	63 (56-75)	0.089
	normal	29 (64.4%)	14 (51.9%)	8 (33.3%)	0.067
	delayed	10 (22.2%)	4 (14.8%)	8 (33.3%)	
	absent	6 (13.4%)	9 (33.3%)	8 (33.3%)	
ML	Median (IQR)	114 (105-126)	116 (101-130)	136 (124-144)*	<0.001
	normal	42 (93.3%)	17 (63%)	8 (33.3%)	<0.001
	delayed	2 (4.4%)	4 (14.8%)	11 (45.8%)	
	absent	1 (2.3%)	6 (22.2%)	5 (20.9%)	

Notes: SL delay: > 63ms; ML delay: > 132ms; IQR: interquartile range. Statistical tests: Kruskal-Wallis for continuous SL and ML values; Qui-square for categorized SL and ML. * statistically different group.

Agreement and reliability of the galvanic-VEMP responses (SL and ML)

The agreement and the reliability measures were acceptable in intrarater (test-retest) and interrater calculations for SL and ML in the total sample and in each group (Tables 3 to 6). There was no clinically relevant difference of these parameters between the groups.

Table 3. Intrarater (test-retest) and interrater agreement and reliability measures of galvanic-VEMP variables (SL and ML) in the total sample (n=96).

	Variable	SEM	RC	ICC	P value	Kappa	P value
Intrarater	SL	6	16	0.803	<0.001	0.533	<0.001
	ML	8	22	0.913	<0.001	0.829	<0.001
Interrater	SL	3	8	0.953	<0.001	0.769	<0.001
	ML	10	27	0.863	<0.001	0.884	<0.001

SEM: standard error measurement. RC: repeatability coefficient. ICC: intraclass correlation coefficient.

Table 4. Intrarater (test-retest) and interrater agreement and reliability measures of galvanic-VEMP variables (SL and ML) in HTLV-1 negative controls (n=45).

	Variable	SEM	RC	ICC	P value	Kappa	P value
Intrarater	SL	5	14	0.688	<0.001	0.494	<0.001
	ML	7	19	0.860	<0.001	0.567	<0.001
Interrater	SL	2	5	0.963	<0.001	0.587	<0.001
	ML	12	33	0.752	<0.001	0.395	<0.001

SEM: standard error measurement. RC: repeatability coefficient. ICC: intraclass correlation coefficient.

Table 5. Intrarater (test-retest) and interrater agreement and reliability measures of galvanic-VEMP variables (SL and ML) in HTLV-1 asymptomatic carriers (n=27).

	Variable	SEM	RC	ICC	P value	Kappa	P value
Intrarater	SL	6	16	0.694	0.014	0.567	<0.001
	ML	8	23	0.923	<0.001	0.861	<0.001
Interrater	SL	4	12	0.861	<0.001	0.878	<0.001
	ML	4	12	0.946	<0.001	0.749	<0.001

SEM: standard error measurement. RC: repeatability coefficient. ICC: intraclass correlation coefficient.

Table 6. Intrarater (test-retest) and interrater agreement and reliability measures of galvanic-VEMP variables (SL and ML) in individuals with HAM (n=24).

	Variable	SEM	RC	ICC	P value	Kappa	P value
Intrarater	SL	7	19	0.850	0.001	0.438	0.002
	ML	10	29	0.861	<0.001	0.869	<0.001
Interrater	SL	3	8	0.978	<0.001	0.813	<0.001
	ML	9	25	0.808	0.001	0.509	<0.001

SEM: standard error measurement. RC: repeatability coefficient. ICC: intraclass correlation coefficient.

Discussion

The concepts and importance of agreement and reliability

The estimates of agreement (repeatability and reproducibility) and reliability are used to evaluate the measurement error of a quantity and its impact on the interpretation of measurements. Any measurement is susceptible to various types of errors that can cause the measured value to be different from the real value. Repeatability of the results (of a measurement) is the approximation between the results of successive measurements of a quantity carried out under the same measurement conditions [49]. These conditions are referred to as repeatability conditions, which include: the same measurement procedure; the same examiner (or rater); the same measuring instrument, used under the same conditions; the same place; and the repetition should be performed within a short time. Reproducibility of the results (of a measurement) is the approximation between the results of the measurements of a quantity carried out with changes in the measurement conditions [49]. Changes considered include the principle and method of measurement, the examiner, the instrument, the

reference standard, the location, the conditions of use, and the time. Repeatability and reproducibility are grouped together in the concept of agreement, i.e., how far apart the repeated measures of the same quantity are. Reliability, on the other hand, correlates the magnitude of the measurement error of the repeated measurements with the inherent, error-free variability among individuals. Therefore, it depends on the variability of the population. If reliability is high, measurement errors are small relative to the actual differences among individuals in the population, and the method can differentiate well despite the measurement error [47].

The measurement error of the repeated measurements may be due to intraindividual biological variability, intrinsic variability to the measuring instrument, variability between one instrument and another, circumstances in which the measurement is performed, intrarater variability (the same examiner gives two different judgments at two different times) and interrater variability (one examiner gives a different judgment from the other examiner). By measuring and quantifying the measurement error (through repeatability, reproducibility, and reliability estimates), it is possible to judge whether this error is acceptable within the context in which the measurement is to be applied [47].

Agreement and reliability in Galvanic-VEMP

Galvanic-VEMP has been used to investigate the postural balance in normal individuals for more than four decades [50-55], and in recent years this exam has been considered to be an auxiliary tool for the diagnosis of myelopathies [2-5]. The accuracy of galvanic-VEMP has been described [5], but not the agreement and reliability, which are equally important to validate a diagnostic tool.

The present study evaluated, for the first time, the agreement and the reliability of galvanic-VEMP between two repeated measurements (intrarater test-retest) and between measurements made by two examiners (interrater). Galvanic-VEMP is a test that measures the time, in milliseconds, of a postural reflex from its generation by electric stimulation of the vestibular nuclei until its muscular response, which is recorded by surface electromyography. Therefore, the response can be recorded only from the muscles involved in the balance control.

Several factors can lead to a variability / measurement error of galvanic-VEMP latencies: 1) the circadian biological variations of individuals; 2) possible intrinsic instabilities of the devices; 3) the variability in the interpretation of the examiner when analyzing the electromyography curve; 4) the variability of interpretation of different examiners; 5) the variability of sensory perception, such as vision, hearing, and proprioception, which influences the EMG responses. Aimed at reducing external bias, the test is conducted in a silent environment, with a grounded electrical grid, and the patient must be able to maintain a correct posture during the exam, with eyes closed [36, 45, 56-58].

A practical way for clinicians to evaluate the error of measurement (both random and systematic errors) is by observing the RC, which is expressed in the same unit as the measurement tool (in milliseconds, in our case). It is expected that the absolute difference between two measurements on a subject differs by no more than the repeatability coefficient in 95% of the occasions. For this reason, the RC is also referred to as the Smallest Real Difference (SRD) [59]. In our results, RC was 16 ms for SL and 22 ms for ML in intrarater repeated measures, and 8 ms for SL and 27 ms for ML in interrater repeated measures, meaning that latency differences larger than these values are due to real differences and not measurement errors, considering a 95% probability. These estimates are important to be considered when the method is going to be used to detect the real difference within-subject in the disease progression or therapeutic response, which are, for instance, the proposed uses for galvanic-VEMP. The RC is calculated based on the measurement error (SEM). SEM alone can be interpreted when there is an established concept of the differences that are clinically relevant. However, regarding the variables SL and ML, there is still no conclusion about how large the difference must be in order to be considered a significant change in the exam. In our study, SEM was 6 ms (intrarater) and 3 ms (interrater) for SL and 8 ms (intrarater) and 10 ms (interrater) for ML. As far as we know, the only available reference parameters are from two cross sectional studies. Cunha et al. found that SL was 67 ± 8 ms in the group with HAM and 55 ± 4 ms in the controls – a difference of 12 ms between the means, while ML was 130 ± 3 ms in HAM and 112 ± 10 in controls – a difference of 18 ms between the means [4]. In patients with schistosomal myeloradiculopathy the SL was 64 ms (60/74) and 59 ms (56/61) in the controls – a difference of 5 ms between the medians, while the ML was 138 ms

(122/153) in patients and 109 ms (106/121) in controls – showing a larger difference of 29 ms [5]. Longitudinal studies with larger samples are warranted to define the clinically relevant change in SL and ML when monitoring HAM and other myelopathies.

For the risk prediction and the diagnosis, on the other hand, it is essential to determine if, despite the error, the method can distinguish the individuals, taking into consideration the variability between people. This aspect is linked to reliability and is assessed by the intra-class correlation coefficient (ICC) [46, 47]. A good ICC is considered to be ≥ 0.70 , which means that at least 70% of the variability in measurements is estimated to be due to real differences in the values, with the remaining 30% or less being due to errors in the measurement process [46, 47]. In our study, galvanic-VEMP proved to be reliable, with very good ICCs: 0.803 (SL) and 0.913 (ML) for intrarater measurements pairs and 0.953 (SL) and 0.863 (ML) for interrater pairs.

The agreement and the reliability parameters described above are suitable for continuous variables. To include galvanic-VEMP in the battery to test the postural reflex, the responses must be categorized into normal, delayed, and absent (criteria described in the methods section). For the categorized results, we calculated the Kappa coefficient, which proved to be quite satisfactory for ML in intrarater and interrater analyses (greater than 0.80). For SL, the interrater Kappa was good (0.769), but for intrarater repeated measurements, it was not clinically acceptable (0.533). The Kappa was under the acceptance level especially in the control group. However, one limitation is that the normality cutoffs used in our study were based on the results of normal individuals from a study with a sample of 13 subjects [4], i.e. we considered the normality cutoff as being 2 standard-deviations over the mean found in this healthy small group. The ROC curve of the galvanic-VEMP showed good results (0.814 for SL, $p = 0.001$, and 0.861 for ML, $p < 0.001$) in a study with schistosomal myeloradiculopathy [5], but the cutoff values of SL and ML were not described. Therefore, future studies on accuracy for definition of normality cutoffs should be conducted.

Conclusion

Galvanic-VEMP proved to have good accuracy [5], and the present results also show good repeatability, reproducibility, and reliability. For the time being, there is still no definition if a change in galvanic-VEMP in HTLV-1-asymptomatic carriers is a biomarker of HAM. A longitudinal study will fill this knowledge gap. We conclude that this test can be considered for the follow-up of HAM, since it proved to be a reliable low-cost, easy to perform, and safe tool to test the postural reflex.

Acknowledgements

We would like to thank the Interdisciplinary HTLV Research Group (GIPH) participants, the personnel of Fundação HEMOMINAS, Hospital das Clínicas, and Universidade Federal de Minas Gerais for their collaboration in this study.

References

1. Fitzpatrick RC, Day BL. Probing the human vestibular system with galvanic stimulation. *J Appl Physiol.* 2004; 96: 2301-2316.
2. Iles JF, Ali AS, Savic G. Vestibular-evoked muscle responses in patients with spinal cord injury. *Brain.* 2004; 127: 1584-1592.
3. Liechti M, Müller R, Lam T, Curt A. Vestibulospinal responses in motor incomplete spinal cord injury. *Clin Neurophysiol.* 2008; 119: 2804-2812.
4. Cunha LCM, Tavares MC, Criollo CJT, Labanca L, Paz CCSC, Martins HR, et al. Contribution of Galvanic Vestibular Stimulation for the Diagnosis of HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *J Clin Neurol.* 2013; 9: 252-258.
5. Caporali JFM, Gonçalves DU, Labanca L, Oliveira LD, Trindade GVM, Pereira TA, et al. Vestibular evoked myogenic potential (VEMP) triggered by galvanic vestibular

- stimulation (GVS): a promising tool to assess spinal cord function in Schistosomal Myeloradiculopathy. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016 Apr 29;10(4):e0004672.
6. Kaplan JE, Osame M, Kubota H, Igata A, Nishitani H, Maeda Y, et al. The risk of development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-I. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr*. 1990; 3: 1096-1101.
 7. Murphy EL, Frider J, Smith JW, Engstrom J, Sacher RA, Miller K, et al. HTLV-associated myelopathy in a cohort of HTLV-I and HTLV-II-infected blood donors. The REDS investigators. *Neurology*. 1997; 48: 315-320.
 8. Orland JR, Engstrom J, Frider J, Sacher RA, Smith JW, Nass C, et al. Prevalence and clinical features of HTLV neurologic disease in the HTLV Outcomes Study. *Neurology*. 2003; 61: 1588-1594.
 9. Maloney EM, Cleghorn FR, Morgan OS, Rodgers-Johnson P, Cranston B, Jack N, et al. Incidence of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Jamaica and Trinidad. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol*. 1998; 17: 167-170.
 10. Romanelli LC, Caramelli P, Martins ML, Gonçalves DU, Proietti FA, Ribas JG, et al. Incidence of human T cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis in a long-term prospective cohort study of initially asymptomatic individuals in Brazil. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2013; 29: 1199-1202.
 11. de The G, Bomford R. An HTLV-I vaccine: why, how, for whom? *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1993; 9: 381-386.
 12. Gessain A, Cassar O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. *Front. Microbiol*. 2012; 3: 388.
 13. Gessain A, Barin F, Vernant JC, Gout O, Maurs L, Calender A, et al. Antibodies to human T lymphotropic virus type I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet*. 1985; 2: 407-410.
 14. Osame M, Usuku K, Izumo S, Ijichi N, Amitani H, Igata A, et al. HTLV-I associated myelopathy: a new clinical entity. *Lancet*. 1986; 1:1031-1032.

15. Román GC, Osame M. Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. *Lancet*. 1988; 1:651.
16. Osame M. Review of WHO Kagoshima meeting and diagnostic guidelines for HAM/TSP. In: Blattner W, editor. *Human retrovirology: HTLV*. New York: Raven Press; 462 1990. pp 191-197.
17. Araújo AQC, Andrade-Filho AS, Castro-Costa CM, Menna-Barreto M, Almeida SM. HTLV-1 Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis in Brazil: a Nationwide Survey. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*. 1998 Dec 15; 19 (5):536-541.
18. Shibasaki H, Endo C, Kuroda Y, Kakigi R, Oda K, Komine S. Clinical picture of HTLV-I associated myelopathy. *J Neurol Sci*. 1988; 87: 15-24.
19. Martin F, Fedina A, Youshya S, Taylor GP. A 15-year prospective longitudinal study of disease progression in patients with HTLV-1 associated myelopathy in the UK. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2010 Dec; 81(12):1336-1340.
20. Labanca L, Starling AL, de Sousa-Pereira SR, Romanelli LC, de Freitas Carneiro-Proietti AB, Carvalho LN, et al. Electrophysiological analysis shows dizziness as the first symptom in human T cell lymphotropic virus type-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2015 Jun; 31(6):649-654.
21. Oliveira P, Castro NM, Muniz AL, Tanajura D, Brandão JC, Porto AF, et al. Prevalence of erectile dysfunction in HTLV-1-infected patients and its association with overactive bladder. *Urology*. 2010; 75:1100-1103.
22. Castillo JL, Cea JG, Verdugo RJ, Cartier L. Sensory dysfunction in HTLV-I-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis. A comprehensive neurophysiological study. *Eur. Neurol*. 1999; 42: 17-22.
23. Franzoi AC, Araujo AQ. Disability profile of patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis using the Functional Independence Measure (FIM). *Spinal Cord*. 2005; 43: 236-240.

24. Franzoi AC, Araújo AQ. Disability and determinants of gait performance in tropical spastic paraparesis/HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP). *Spinal Cord*. 2007 Jan;45(1):64-68.
25. Olindo S, Cabre P, Lézin A, Merle H, Saint-Vil M, Signate A, et al. Natural history of human T-lymphotropic virus 1-associated myelopathy: a 14-year follow-up study. *Arch Neurol*. 2006 Nov; 63(11):1560-1566.
26. Narikawa K1, Fujihara K, Misu T, Feng J, Fujimori J, Nakashima I, et al. CSF-chemokines in HTLV-I-associated myelopathy: CXCL10 up-regulation and therapeutic effect of interferon- α . *J. Neuroimmunol*. 2005; 159: 177-182.
27. Sato T, Coler-Reilly A, Utsunomiya A, Araya N, Yagishita N, Ando H, et al. CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2013; 7: e2479.
28. Guerreiro JB, Santos SB, Morgan DJ, Porto AF, Muniz AL, Ho JL, et al. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. *Clin. Exp. Immunol*. 2006; 145: 296-301.
29. Starling AL, Coelho-Dos-Reis JG, Peruhype-Magalhães V, Pascoal-Xavier MA, Gonçalves DU, Béla SR, et al. Immunological signature of the different clinical stages of the HTLV-1 infection: establishing serum biomarkers for HTLV-1-associated disease morbidity. *Biomarkers*. 2015; 20(6-7): 502-512.
30. Iwasaki Y, Ohara Y, Kobayashi I, Akizuki S. Infiltration of helper/inducer T lymphocytes heralds central nervous system damage in human T-cell leukemia virus infection. *Am. J. Pathol*. 1992; 140: 1003-1008.
31. Bangham CR, Araujo A, Yamano Y, Taylor GP. HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Nat Rev Dis Primers*. 2015 Jun 18; 1:15012.

32. Fitzpatrick, RC, Burke D , Gandevia SC. Task-dependent reflex responses and movement illusions evoked by galvanic vestibular stimulation in standing humans. *J Physiol.* 1994; 15(478): 363-372.
33. Kim J , Curthoys I S. Responses of primary vestibular neurons to galvanic vestibular stimulation (GVS) in the anaesthetised guinea pig. *Brain Res Bull.* 2004; 64(3): 265-71.
34. Curthoys IS, Macdougall H G. What galvanic vestibular stimulation actually activates. *Front Neurol.* 2012; 20 (117): 1-4.
35. de Natale ER, Ginatempo F, Paulus KS, Pes GM, Manca A, Tolu E, et al. Abnormalities of vestibular-evoked myogenic potentials in idiopathic Parkinson's disease are associated with clinical evidence of brainstem involvement. *Neurol Sci.* 2015; 36: 995-1001.
36. Britton TC, Day BL, Brown P, Rothwell JC, Thompson PD Marsden CD. Postural electromyographic responses in the arm and leg following galvanic vestibular stimulation in man. *Exp Brain Res.* 1993; 94: 143-151.
37. Watson SR, Colebatch JG. Vestibular-evoked electromyographic responses in soleus: a comparison between click and galvanic stimulation. *Exp Brain Res.* 1998; 119: 504-510.
38. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA.* 2013 Nov 27; 310 (20): 2191-2194.
39. Gonçalves DU, Proietti FA, Ribas JG, Araújo MG, Pinheiro SR, Guedes AC, et al. Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. *Clin Microbiol Rev.* 2010 Jul; 23(3): 577-589.
40. Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA; Interdisciplinary HTLV Research Group. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad Saude Publica.* 2005 May-Jun;21(3): 926-931.
41. Carneiro-Proietti AB, Ribas JG, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito-Melo GE, Martins-Filho O, et al. Infecção e doença pelos vírus linfotrópicos humanos de células T (HTLV-I/II) no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2002 Sep-Oct; 35(5): 499-508.

42. Reiss DB, Freitas GS, Bastos RHC, de Souza MA, Horiguchi CLF, Martins ML, et al. Neurological outcomes analysis of HTLV-1 seropositive patients of the Interdisciplinary Research HTLV Group (GIPH) cohort, Brazil. *Retrovirology*. 2014; 11(Suppl 1): 51.
43. De Castro-costa CM, Araújo AQC, Barreto MM, Takayanagui OM, Sohler MP, da Silva EL, et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP). *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2006; 22: 931-935.
44. Shoukri MM, Asyali MH, Donner A. Sample size requirements for the design of reliability study: review and new results. *Stat. Methods Med. Res*. 2004; 13: 251-271.
45. Muise SB, Lam CK, Bent LR. Reduced input from foot sole skin through cooling differentially modulates the short latency and medium latency vestibular reflex responses to galvanic vestibular stimulation. *Exp Brain Res*. 2012; 218: 63-71.
46. de Vet HC, Terwee CB, Knol DL, Bouter LM. When to use agreement versus reliability measures. *J Clin Epidemiol* 2006; 59:1033-1039.
47. Bartlett JW, Frost C. Reliability, repeatability and reproducibility: analysis of measurement errors in continuous variables. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2008 Apr; 31(4): 466-475.
48. McHugh ML. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Med*. 2012 Oct; 22(3): 276–282.
49. Joint Committee for Guides in Metrology (JCGM). International Vocabulary of Metrology – Basic and General Concepts and Associated Terms (VIM 3rd edition) JCGM 200; 2012.
50. Melyill JG, Watt, DGD. Muscular control of landing from unexpected falls in man. *J. Physiol*. 1971; 219: 729-737.
51. Nashner LA. Adapting reflexes controlling the human posture. *Exp Brain Res*. 1976; 26: 59-72.
52. Nashner LM, Wvolfson P. Influence of head position and proprioceptive cues on short latency postural reflexes evoked by galvanic stimulation of the human labyrinth. *Brain Res*. 1974; 67: 255-268.

53. Allum JHJ, Pfaltz CR. Visual and vestibular contributions to pitch sway stabilization in the ankle muscles of normals and patients with bilateral vestibular deficits. *Exp Brain Res.* 1985; 58: 82-94.
54. Bussel B, Katz R, Pierrot-Deseilligny E, Bergego C, Hayat A. Vestibular and proprioceptive influences on the postural reactions to a sudden body displacement in man. In: Desmedt JE, editor. *Progress in Clinical Neurophysiology*, vol. 8, Spinal and Supraspinal Mechanisms of Voluntary Motor Control and Locomotion. Basel: Karger; 1980. pp. 310-322.
55. Horstmann GA, Dietz, V. The contribution of vestibular input to the stabilization of human posture: a new experimental approach. *Neurosci. Lett.* 1988; 95: 179-184.
56. Grillner S, Hongo T, Lund S. Convergent effects on alpha motoneurons from the vestibulospinal tract and a pathway descending in the medial longitudinal fasciculus. *Exp Brain Res.* 1971; 12: 457-479.
57. Day BL, Cole J. Vestibular-evoked postural responses in the absence of somatosensory information. *Brain.* 2002; 125: 2081-2088.
58. Cathers I, Day BL, Fitzpatrick RC. Otolith and canal reflexes in human standing. *J Physiol.* 2005; 563: 229-34.
59. Vaz S, Falkmer T, Passmore AE, Parsons R, Andreou P. The Case for Using the Repeatability Coefficient When Calculation Test-Retest Reliability. *PLoS One.* 2013 Sep 9;8(9):e73990.

5.2 Artigo original com os resultados da segunda etapa da tese

HTLV-1 Associated Myelopathy progression evaluated by Vestibular Evoked
Myogenic Potential triggered by Galvanic Vestibular Stimulation (galvanic-
VEMP)

Júlia Fonseca de Moraes Caporali¹, Ludimila Labanca¹, Kyonis Rodrigues
Florentino¹, Bárbara Oliveira Souza¹, Tatiana Roncha Silva¹, Denise Utsch
Gonçalves^{1*}

¹Programa de Pós-Graduação em Infectologia e Medicina Tropical, Faculdade
de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas
Gerais, Brazil

* Corresponding author E-mail: denise@medicina.ufmg.br

Abstract

Background: The current clinical trials on disease modifying treatments for the human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) associated myelopathy (HAM) raise the need for biomarkers for early diagnosis, prognosis and disease activity monitoring. The vestibular evoked myogenic potential triggered by galvanic stimulation (galvanic-VEMP) is a non-invasive exam that evaluates spinal cord function and is a candidate for this role. **Methods:** This is a prospective study of 49 HTLV-1 infected individuals, of which 26 asymptomatic carriers (AC), 14 presented possible HAM (pHAM) and 9 defined HAM (dHAM). The subjects were submitted to clinical evaluation, disability scales (EDSS and OMDS) and galvanic-VEMP at baseline and after a follow-up of 0.91 to 3 years. Galvanic stimulus was applied on the mastoid processes and VEMP was obtained from the gastrocnemius muscle. The galvanic-VEMP variables were the short latency (SL) and the medium latency (ML) electromyographic responses, which were classified as normal, delayed or absent. **Results:** SL ($p=0.011$) and ML ($p=0.030$) were progressively impaired in AC, pHAM and dHAM in the cross sectional analysis between groups. After a median follow-up of 20 months (11 to 36), EDSS improved from 0.5 ± 0.5 to 0.2 ± 0.5 ($p=0.014$) in AC and from 2.5 ± 1.7 to 1.9 ± 1.9 ($p=0.027$) in pHAM. In the dHAM group, EDSS was unchanged, from 5.6 ± 1.2 in baseline to 5.7 ± 1.1 ($p=0.655$). The OMDS was stable in all groups. In the total sample, the rate of normal VEMP responses increased for SL ($p=0.014$) and for ML ($p=0.013$), due to improvement in the AC group. The pHAM group showed the same amelioration pattern for ML, but not for SL. Among patients with dHAM, there was general stability in VEMP responses during the follow-up, although 4 (45%) patients showed SL and ML deterioration, one (11%) had SL improvement and 2 (22%) had ML improvement. The rate of abnormal galvanic-VEMP decreased in the AC group from 53.2% to 46.2% ($p=0.045$) and was steady at 78% and 88.9% among pHAM and dHAM respectively. There was a weak to moderate

correlation between the galvanic-VEMP and the clinical variables. **Conclusion:** Unexpectedly, we observed galvanic-VEMP improvement among AC during the follow-up period. In the pHAM and dHAM groups, the high rate of abnormal VEMP remained stable, but some patients showed electrophysiologic deterioration and others improved. The galvanic-VEMP findings suggest fluctuating improvements and a heterogeneous progression of the spinal cord involvement. The exam provided information about disease activity. A longer follow-up will clarify its prognostic validity.

Keywords: HTLV-1; HTLV-1 associated myelopathy (HAM); Vestibular evoked myogenic potential (VEMP); Galvanic vestibular stimulation (GVS); galvanic-VEMP; prospective study

Introduction

The human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) associated myelopathy (HAM) was first described as a neurologic condition associated to the HTLV-1 infection in the 1980s [1, 2]. HAM is a chronic non-remitting spinal cord disease with a prevalence of 1-4% [3-7] among the 5-20 million people infected with HTLV-1 worldwide [8-9]. HAM affects more frequently adults in the fifth decade of life, with higher prevalence among women (2:1 to 3:1) [1, 2, 10-16].

HAM is characterized by a predominant motor impairment of lower limbs with insidious progression to a spastic paraparesis. Within 10-20 years of the symptoms onset, 20-50% of the patients is wheelchair bound [13, 14, 17, 18]. The initial clinical features are dizziness, lower limbs weakness and sphincter and sexual disturbances [13, 18, 19, 20].

Sensitive complains such as lumbar and leg pain, and paresthesia of lower limbs are also described [21-23].

The natural history of HAM has not been completely elucidated and the cohort studies have shown different disease courses. The first studies had described a deterioration of the clinical picture in the first years of diagnosis, followed by a plateau phase [10, 24-26]. More recent, the cohort studies have shown another pattern of deterioration characterized by a continuous and slow progression of the disability [13, 18]. In fact, the evolution of gait impairment seems to be heterogeneous among patients and there is conflicting literature about factors associated with a rapid progression, such as proviral load [15, 16, 27] and age of onset [13, 15, 18].

HAM progression is defined according to the motor function decline. The clinical tools that have been used to measure motor decay are the Medical Research Council (MRC) manual muscle testing, the Barthel index [28], the modified Ashworth scale [28, 29], the timed up and go test (TUG) [29], the Functional Independence Measure /Functional Assessment Measure (FIM/ FAM), the Ambulation Function classification, the American Spinal Injury Association Lower Extremity Motor Scores (ASIA LEMS), the Ambulatory Motor Index (AMI) [14, 17, 29], the 10 meters-walk test [18], the 6 minutes-walk test [30], the Expanded Disability Status Scale (EDSS) [19, 20, 23, 31-34], and the Osame's Motor Disability Scale (OMDS) [35].

Recent publications discussed about the use of an electrophysiological tool, the vestibular evoked myogenic potentials (VEMP), to evaluate the spinal cord function in HAM and other myelopathies [36-40]. The stimulus used to generate VEMP can be acoustic or electric (galvanic) and either acoustic-VEMP or galvanic-VEMP has detected neurophysiology changes in HAM with good correlation with the severity of the clinical status. The worse the VEMP response, the worse the myelopathy [19, 38, 39]. In addition,

altered VEMP was found in asymptomatic HTLV-1 infected individuals, indicating subclinical electrophysiology changes which may be a biomarker of HAM, i.e. the first subclinical sign indicating progression to HAM [19, 38, 39].

VEMP assesses the vestibulospinal and reticulospinal tracts. The acoustic-VEMP evaluates the spinal cord until the cervical level, as it is recorded from the sternocleidomastoid muscle. The galvanic-VEMP, instead, is recorded from the soleus or gastrocnemius muscles and, therefore, detects spinal cord injury from cervical to sacral level [41]. Since HAM affects mainly the middle thoracic level, galvanic-VEMP recorded from the lower limbs can provide further information in relation to acoustic-VEMP.

Galvanic-VEMP is a simple, inexpensive and non-invasive exam that quantifies the latency time of a postural reflex to an electric stimulation of the vestibular nuclei [42-44]. The transcranial electric stimulus depolarizes the vestibular nerves and this is perceived by the central nervous system as a rotational head movement. A complex postural reflex is triggered and the muscles engaged in body balance are activated, causing a small temporary sway of the body towards the anode side. The muscle activation (myogenic potential) is recorded by surface electromyography (EMG) in the muscles of the trunk, arms or legs. The EMG activity will be delayed or absent in patients with reticulo or vestibulospinal tract disturbances located at or above the innervation level of the examined muscle.

The aim of this study was to observe the longitudinal changes in galvanic-VEMP recorded from the gastrocnemius muscle in a cohort of patients with HTLV-1 in different clinical conditions: asymptomatic, with possible HAM and with defined HAM.

Methods

Ethical statement

This study follows the ethical principles expressed in the Declaration of Helsinki [45]. It was approved by the Ethics Committees of Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) and of Hemominas Blood Transfusion Agency, in Brazil, under the protocols respectively numbers 266/05 and 131. All participants gave their written informed consent.

Subjects, setting and sample size

This is a prospective observational study that enrolled HTLV-1-infected individuals with and without HAM from the open cohort of the Interdisciplinary HTLV-1 Research Group (GIPH). GIPH has been following an important Latin American cohort of 570 HTLV-1 infected individuals since 1997 in Minas Gerais, Brazil, producing internationally relevant scientific knowledge about HTLV in the epidemiological, clinical and laboratorial areas [7, 43-46, 50].

The participants of the present study were followed-up from November 2013 to November 2017 at the Infectious Diseases Outpatient Clinic of the Hospital das Clínicas of UFMG, Belo Horizonte city, Brazil. They were submitted to galvanic-VEMP, neurological and clinical examination at baseline and after one to three years of follow-up. The clinical status of the patients was assessed by the Expanded Disability Status Scale (EDSS) [31] and the Osame's Motor Disability Scale (OMDS) [35].

The inclusion criteria were positive serology in Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) and Western Blot (WB) and positive Protein Chain Reaction (PCR) for HTLV-1. The participants were classified as: a) asymptomatic carriers (AC), when they presented no signs or symptoms of HAM; b) individuals with possible HAM, when they presented signs or symptoms that resembled HAM but with no exclusion of other possible causes of

myelopathy; c) individuals with defined HAM, with sufficiently impaired gait to be perceived by the patient, with or without sensitive alterations, urinary or anal sphincter signs and exclusion of other causes of myelopathy (Castro-Costa 2006) [51].

The exclusion criteria were: under 18 years of age, uncontrolled acute or chronic diseases, HIV coinfection, suspected or confirmed pregnancy, metallic prosthesis, being unable to stand in the upright position during the galvanic-VEMP procedures and any neurologic diagnosis other than HAM.

The sample size was chosen with the purpose of finding an effect of 0.5 between two paired samples (baseline and follow-up) with non-parametric tests, considering a power of 80% and a significance level of 5%. The calculated sample was of 35 participants, but this study included 51 considering the possibility of losing 30% of the sample in the follow-up.

Study protocol

We performed clinical and neurological interview and examination, EDSS [31] and OMDS [35] and galvanic-VEMP in all participants at baseline and after an interval of one to three years.

The galvanic-VEMP was performed according to the protocol available on www.protocols.io, [dx.doi.org/10.17504/protocols.io.nxbdfin](https://doi.org/10.17504/protocols.io.nxbdfin). The device used for the exam was the EvP4 / ATCPlus model (Contronic Ltda., Pelotas, Brazil). Stimulation self-adhesive surface electrodes had 3 cm in diameter (model CF3200-Valutrode, Axelgaard, Fallbrook, CA, USA) and were placed on the participant's mastoid processes, anode on one side and cathode on the other, for bipolar binaural stimulation. The vestibular stimulation was achieved by a single-phase, rectangular, direct current with an intensity of 2 mA during 400 ms [37, 39, 40]. Each examination consisted of 15 stimulations with the anode in the right ear followed by 15 with the anode in the left ear. Intervals between the stimuli were randomized between 4

and 6 seconds. The EMG activity was recorded by a pair of self-adhesive electrodes (model 2223BRQ, 3M, Saint Paul, MN, United States of America) placed with a 5 cm distance between them, on the medial head of the gastrocnemius muscle. The reference electrode was placed on the back of the thigh. The patient was kept stand on a hard flat floor with eyes closed, bare feet, slightly bent forward, promoting the contraction of the gastrocnemius muscle and with her/his head rotated approximately 90° in the sagittal plane to the contralateral side of the lower limb from which the EMG signals would be drawn (FIG 1).



Fig. 1 Vestibular-evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation procedure. Patient standing with bare feet on a flat and hard surface with eyes closed, feet close together and body leaning forward in order to cause the gastrocnemius muscle contraction; the galvanic-VEMP stimulation device (a); the electrode positions for GVS (b); the electrode position for electromyography on the gastrocnemius muscle (c); the equipment for signal processing (d); and the laptop (e) connected to (a) and (d).

The EMG signals were measured, rectified, filtered between 10Hz and 1000Hz and scanned at a sampling frequency of 5 kHz, using one register channel. EMG was recorded for 500 ms, initiating 100 ms before the galvanic stimulus [39]. The EMG responses to 15 consecutive stimuli with the same polarity setting were averaged, resulting in a final tracing. The measured variables were the latencies (SL and ML) of each of the two components of the galvanic-VEMP biphasic wave. The SL (short latency) is the wave starting at about 60 ms and ML (medium latency) is the following wave, with opposite polarity, starting at about 100 ms. SL and ML reverse with the inversion of the polarity of the stimulus (FIG 2). The responses were considered altered if they were delayed or absent (FIG 2). Delay was considered when responses onset was later than 2 standard-deviations over the mean found in healthy controls, i.e., 63 ms for SL and 132 ms for ML [39]. The galvanic-VEMP was considered abnormal if any of the two EMG responses (SL or ML) were altered, i.e. delayed or absent.

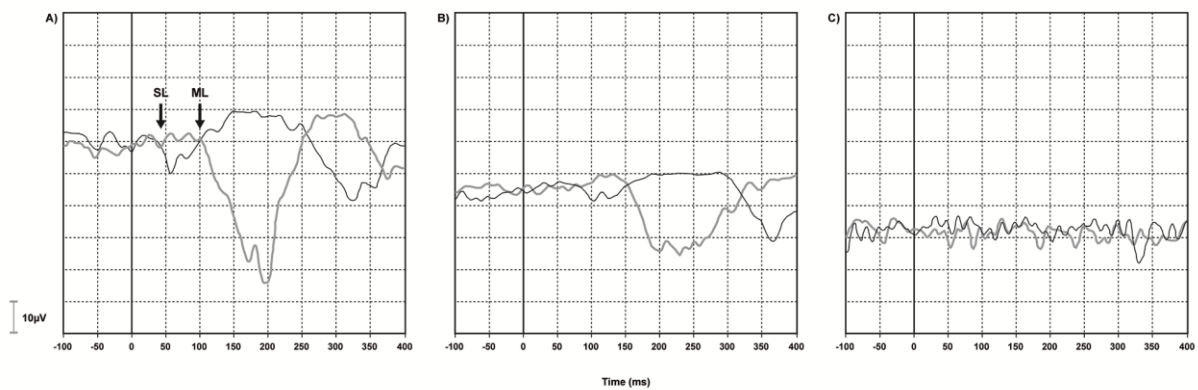


Fig 2. Normal, delayed and abnormal response patterns in vestibular-evoked myogenic potential triggered by galvanic vestibular stimulation (galvanic-VEMP). (A) Normal electromyographic (EMG) response recorded from the gastrocnemius muscle. The black line indicates the trace with the cathode on the right and the anode on the left, whereas the blue line indicates the opposite stimulation polarity. SL, short-latency response (~50 ms) and ML, medium-latency response (~100 ms). (B) Delayed EMG responses. SL ~80 ms and ML ~150 ms. (C) Absent EMG response, no SL and no ML.

Statistical analysis

The database was fed with double input using the EpiData 3.0 program (EpiData Data Entry, Data Management and basic Statistical Analysis System, EpiData Association, 2000-2008, Odense, Denmark). The SPSS 15.0 program (SPSS, Inc., Chicago, IL, United States) was used to describe the variables and conduct statistical analysis. Continuous variables were tested for normality with Shapiro-Wilk test and some of them showed a non-normal distribution, therefore non-parametric test were standardized for all variables. Kruskal-Wallis test was used to compare continuous variables between groups. Paired Wilcoxon test was used to compare time one with time two for continuous variables. Spearman test was used to analyze correlation between ordinal variables. The galvanic-VEMP ordinal variables were categorized in 1=normal, 2=delayed and 3=absent. SL and ML cutoffs are described in the previous section. For categorized variables, a chi-square test (Pearson's or Fisher's) was used. The significance level was 5%.

Results

Fifty-one patients with HTLV-1 were enrolled in this study, of which two were excluded: one received the diagnosis of HIV coinfection during follow-up and one died. Forty-nine patients completed the baseline and follow-up protocols. Their mean age was 59 $\pm$ 11 years, and 67% were female and the median time of follow-up was 20 months, ranging from 11 to 36 months.

The classification of the HTLV-1 neurological status was done at enrollment and 26 patients were classified as asymptomatic carriers (AC), 14 as possible HAM (pHAM) and 9 as defined HAM (dHAM). The groups were similar regarding gender ($p=0.165$), age ($p=0.344$) and time period between VEMP record in the baseline and in the follow-up evaluation ($p=0.246$) (Table 1). The mean time from HAM diagnosis in the dHAM group was

7.5 years, ranging from 1 to 16 years. The patients were not submitted to any therapy to modify the progression of HAM during the follow-up period.

Table 1 – Comparison regarding gender, age and time period of follow-up among clinical groups of HTLV-1 infected individuals studied from 2013 to 2017 in Minas Gerais, Brazil.

Variable	Asymptomatic carriers (n=26)	Possible HAM (n=14)	Defined HAM (n=9)	P value
Female gender	15 (60)	13 (87)	5 (56)	0.165
Age	60 (35-78)	57 (45-77)	64 (45-81)	0.344
Time period of follow-up in months	19 (11-34)	21 (12-36)	21 (12-26)	0.246

Female gender: n (%); age and time interval: median (min-max)

During the follow-up, two out of 26 (8%) AC evolved to pHAM and five out of 14 (36%) pHAM improved, based on the clinical criteria, and were reclassified as AC. However, for the prospective statistical analyses, the enrolment classification was used. The patients presenting dHAM remained the same during the entire follow-up period

The clinical and the galvanic-VEMP data comparison among groups is described in Table 2. We found that the VEMP and clinical variables were more impaired in pHAM when compared to AC, and more impaired in dHAM when compared to pHAM. This pattern of progressive impairment was observed in the baseline and continued after a median of 20-months-time of follow-up (Table 2).

The within groups prospective comparison is described in Table 3. We observed a clinical improvement among AC and pHAM during the follow-up period (Table 3). EDSS improved from 0.5 ± 0.5 to 0.2 ± 0.5 ($p=0.0142$) in AC and from 2.5 ± 1.7 to 1.9 ± 1.9

($p=0.027$) in pHAM. In the dHAM group, we observed a stability in EDSS, from 5.6 ± 1.2 in baseline to 5.7 ± 1.1 after nearly two years of follow-up ($p=0.655$). The OMDS did not change from the baseline to the second evaluation in any group. EDSS is more sensitive to changes than ODMS because it takes into consideration abnormalities in the neurological examination as well as changes in other function systems other than motor function.

The clinical improvement in the AC and in the pHAM groups was accompanied by a similar evolution in VEMP. In the total sample, the rate of normal EMG responses increased and rate of absent EMG responses decreased for SL ($p=0.014$) and for ML ($p=0.013$), due to improvement in the AC group (Table 3). It is noteworthy, however, that two (7.7%) AC individuals had clinical improvement and 4 (15.4%) had galvanic-VEMP improvement. The pHAM group showed amelioration for ML, but not for SL. Instead, in the dHAM group, despite the stability of clinical status, we found a tendency to deterioration of the VEMP EMG responses, but with no statistical difference. In this group, the number of patients with absent EMG responses increased from 4 to 6 for SL, and from 3 to 4 for ML. Among patients with dHAM, despite general stability in clinical features and VEMP responses during the follow-up, 4 (45%) patients showed SL and ML deterioration, one (11%) had SL improvement and 2 (22%) had ML improvement. Finally, analyzing the rate of abnormal galvanic-VEMP (impairment in SL or ML), we saw an amelioration in the AC group, with the abnormality rate decreasing from 53.2% to 46.2% ($p=0.045$) and a stability among pHAM and dHAM patients, which maintained a 78% and an 88.9% rate of abnormality (Table 3).

Table 2. Comparison of clinical and galvanic-VEMP variables among groups of HTLV-1 infected individuals at baseline and after a follow-up from 2013 to 2017, in Minas Gerais, Brazil.

Variable		Asymptomatic carriers (n=26)	Possible-HAM (n=14)	Defined-HAM (n=9)	P value
EDSS					
baseline		0.5 ± 0.5 (0-1.5)	2.5 ± 1.7 (1- 5.5)	5.6 ± 1.2 (3-7)	<0.001
follow-up		0.2 ± 0.5 (0-1.5)	1.9 ± 1.9 (0- 5.5)	5.7 ± 1.0 (3-6.5)	<0.001
OMDS					
baseline		<0.1± 0.2 (0-1)	1.6 ± 1.7 (0-4)	4.8 ± 0.8 (3-6)	<0.001
follow-up		<0.1± 0.2 (0-1)	1.1 ± 1.5 (0-4)	5 ± 0.7 (4-6)	<0.001
SL					
baseline	normal	12 (46.2)	4 (28.6)	3 (33.3)	0.761
	delayed	7 (26.9)	4 (28.6)	2 (22.2)	
	absent	7 (26.9)	6 (42.9)	4 (44.4)	
follow-up	normal	17 (65.4)	3 (21.4)	2 (22.2)	0.011
	delayed	4 (15.4)	6 (42.9)	1 (11.1)	
	absent	5 (19.2)	5 (35.7)	6 (66.7)	
ML					
baseline	normal	15 (57.7)	4 (28.6)	1 (11.1)	0.076
	delayed	6 (23.1)	4 (28.6)	5 (55.6)	
	absent	5 (19.2)	6 (42.9)	3 (33.3)	
follow-up	normal	18 (69.2)	5 (35.7)	1 (11.2)	0.030
	delayed	5 (19.2)	5 (35.7)	4 (44.4)	
	absent	3 (11.5)	4 (28.6)	4 (44.4)	
Abnormal galvanic- VEMP					
baseline		14 (53.8)	11 (78.6)	8 (88.9)	0.088
follow-up		12 (46.2)	11 (78.6)	8 (88.9)	0.027

EDSS and OMDS: mean ± sd (min- max); SL, ML and abnormal galvanic-VEMP: n (%)

Table 3. Prospective comparison of clinical and galvanic-VEMP variables in the total sample of HTLV-1 infected individuals (n=49) and in each clinical group - asymptomatic carriers (n=26), possible-HAM (n=14) and defined-HAM (n=9) - at baseline and after a follow-up from 2013 to 2017, in Minas Gerais, Brazil.

Variable	Group		Baseline	Follow-up	P value
EDSS	Total sample		2.0 ± 2.2 (0-7)	1.7 ± 2.3 (0-6.5)	0.005
	AC		0.5 ± 0.5 (0-1.5)	0.2 ± 0.5 (0-1.5)	0.014
	pHAM		2.5 ± 1.7 (1- 5.5)	1.9 ± 1.9 (0-5.5)	0.027
	dHAM		5.6 ± 1.2 (3-7)	5.7 ± 1.1 (3- 6.5)	0.655
OMDS	Total sample		1.3 ± 2.0 (0-6)	1.2 ± 2.0 (0- 6)	0.380
	AC		<0.1± 0.2 (0-1)	<0.1± 0.2 (0-1)	1.0
	pHAM		1.6 ± 1.7 (0-4)	1.2 ± 1.5 (0-4)	0.131
	dHAM		4.8 ± 0.8 (3-6)	5 ± 0.8 (4-6)	0.157
Abnormal galvanic-VEMP	Total sample		33 (67.3)	31 (63.3)	0.009
	AC		14 (53.8)	12 (46.2)	0.045
	pHAM		11 (78.6)	11 (78.6)	0.571
	dHAM		8 (88.9)	8 (88.9)	0.708
SL	Total	normal	19 (38.8)	22 (44.9)	0.014
	sample	delayed	13 (26.5)	11 (22.5)	
		absent	17 (34.7)	16 (32.7)	
	AC	normal	12 (46.2)	17 (65.4)	0.208
		delayed	7 (26.9)	4 (15.4)	
		absent	7 (26.9)	5 (19.2)	
	pHAM	normal	4 (28.6)	3 (21.4)	0.830
		delayed	4 (28.6)	6 (42.9)	
		absent	6 (42.9)	5 (35.7)	

	dHAM	normal	3 (33.3)	2 (22.2)	0.478
		delayed	2 (22.2)	1 (11.1)	
		absent	4 (44.4)	6 (66.7)	
ML	Total	normal	20 (40.8)	24 (49)	0.013
	sample	delayed	15 (30.6)	14 (28.6)	
		absent	14 (28.6)	11 (22.4)	
	AC	normal	15 (57.7)	18 (69.2)	0.107
		delayed	6 (23.1)	5 (29.2)	
		absent	5 (19.2)	3 (11.6)	
	pHAM	normal	4 (28.6)	5 (35.7)	0.101
		delayed	4 (28.6)	5 (35.7)	
		absent	6 (42.9)	4 (28.6)	
	dHAM	normal	1 (11.1)	1 (11.2)	0.463
		delayed	5 (55.6)	4 (44.4)	
		absent	3 (33.3)	4 (44.4)	
EDSS and OMDS: mean $\pm$ sd (min- max); SL, ML and abnormal galvanic-VEMP: n (%)					

We found a weak to moderate correlation between the galvanic-VEMP variables and the clinical variables (Table 4). The best correlations were found in the follow-up evaluation, with SL showing correlation coefficient of 0.502 ($p<0.001$) with EDSS, and 0.40 ($p=0.005$) with OMDS. Similarly, ML correlation coefficient was 0.511 ($p<0.001$) with EDSS, and 0.445 with OMDS ($p=0.002$). The correlation between SL and ML was strong in the baseline (0.642, $p<0.001$) and follow-up (0.797, $p<0.001$) evaluations.

Table 4. Linear correlations between clinical variables (EDSS and OMDS), and galvanic-VEMP variables (SL and ML) among the studied HTLV-1 infected individuals (n=49) at baseline and after a follow-up from 2013 to 2017, in Minas Gerais, Brazil.

Baseline data		EDSS	OMDS	SL	ML
EDSS	Correlation Coefficient		0.834	0.282	0.408
	P value	.	0.000	0.049	0.004
OMDS	Correlation Coefficient			0.083	0.287
	P value			0.570	0.046
SL	Correlation Coefficient				0.642
	P value		.		0.000
Follow-up data		EDSS	OMDS	SL	ML
EDSS	Correlation Coefficient		0.884	0.502	0.511
	P value	.	0.000	0.000	0.000
OMDS	Correlation Coefficient			0.405	0.445
	P value		.	0.005	0.002
SL	Correlation Coefficient				0.797
	P value				0.000

Discussion

Assessing spinal cord function with galvanic-VEMP and clinical variables

In accordance with the previous literature, we found that the VEMP variables, SL and ML, were progressively impaired in AC, pHAM and dHAM [19, 38, 39]. The VEMP abnormalities in AC mean subclinical spinal cord involvement as these abnormalities are not observed in healthy negative HTLV-1 controls [19, 38, 39]. However, unexpectedly, we observed an improvement either in galvanic-VEMP as in EDSS in the AC group after a median time of 19 (11 to 34) months of follow-up. The EDSS also improved among pHAM patients, but the VEMP variables showed no statistically significant change in this group, although 3 (21%) improved SL and 4 (28.5%) improved ML. Finally, among patients with dHAM, there was general stability in clinical features and VEMP responses during the follow-up, although 4 (45%) patients showed SL and ML deterioration, one (11%) had SL improvement and 2 (22%) had ML improvement. In accordance with our findings, previous cohort studies have described heterogeneous progression among patients with HAM. Adonis et al. found a general deterioration of 4 seconds in mean gait speed in a HAM cohort (n=26) after 18 months of follow-up, but a dramatic improvement in the 6 minute walk test in 6 (23%) patients, only two of them having been submitted to disease modifying treatment [30]. Cases of improvement were described also by Martin et al. (2010), who followed-up a HAM cohort (n=48) and observed amelioration in timed walk in 7 patients (19%) after a median of 0.4 years of follow-up (0.25 to 0.92), despite the timed walk deterioration in 81% of the cohort, which was followed-up for a median of 3.8 years (0.5 to 13). These authors also described “the non-progressors” and “the slow-progressors”, i.e. the patients that showed clinically insignificant motor decay after a follow-up time of ≥ 2 years. In 2001, Matsuzaki et al. followed up 64 patients with HAM for 10 years, and the clinical symptoms deteriorated in 36 patients (56%), unchanged in 26 patients (41%), and improved in 2 patients (3%) [15].

These findings, together with our results, suggest a clinical pattern of fluctuation in the neurological alterations with transient but also long lasting improvements in some patients with HAM [15, 18, 30]. In short, our study confirmed previous observations about the HAM natural course showing that HAM may evolve in progressive deterioration [13, 14, 24, 32] and may also present a clinical plateau or even improvement although less frequently [15, 18, 30].

Differently from the above cited authors that followed-up only patients with HAM, we have also followed the HTLV-1-asymptomatic carriers (AC) and we have found clinical and electrophysiological improvement among them. Tanajura et al. (2014) followed a cohort with similar groups of individuals and observed a high incidence of neurological signs and symptoms in the AC, some of them evolving to pHAM [20]. However, they did not describe the follow-up of these symptoms. Basing on our results, we think that these outcomes may be transient in some cases, and even pHAM may remit to AC. It is possible that the periods of fluctuation in the neurological alterations represent periods of worsening in the spinal inflammation, that is crucial for HAM development [50, 52, 53].

The unexpected observation of cases of clinical and electrophysiology improvement or stability in AC, pHAM and dHAM, have importance in the clinical practice. They show that we still don't have enough evidence to provide precise information about prognosis to patients with HTLV-1 when they present the firsts neurological signs and symptoms. Good accuracy of prognosis is paramount considering its impact on the mental health of patients.

The need for biomarkers for early diagnosis, prognostic and therapeutic outcome monitoring in HAM

The importance of the early diagnosis of HAM lies mainly on the hypothesis that therapy would be more effective in patients with less severe disability or less duration of

disease, supposing that irreversible neuron damage has not yet occurred [54]. Boostani et al. (2015) showed that triple therapy with prednisolone, pegylated interferon and sodium valproate improved clinical outcome in patients that initially had ODMS 2.4 ± 1.9 and improved to 1.3 ± 1.8 at the end of the treatment [55]. They included, therefore, patients with a relatively low level of disability as candidates for treatment. Other authors relate a better effect of treatment to the duration of the disease [56]. Buell and colleagues, in fact, found that patients with more severe gait impairment but shorter duration of disease showed the greater improvement after pulsed methylprednisolone. Actually, even in patients with long duration of the disease (mean of 12 years) and advanced disability (mean OMDS 5), a recent trial showed improvement with low daily dose of prednisolone [57]. Nonetheless, making therapeutic intervention in the initial phase of the disease, with more inflammation and less scarring and neurodegeneration, is compelling. In that case, there is a need for biomarkers for diagnosing early HAM and for identifying those with worse prognosis that will benefit from therapeutic intervention. There is also a search for biomarkers to evaluate therapeutic response in clinical trials [54]. Motor function measurements such as the 10 minute-walk test [18] and biomarkers related to inflammation have been considered [50, 54, 58]. In this scenario, galvanic-VEMP is proposed as an adjuvant non-invasive biomarker, understanding that it will probably be necessary an ensemble of biomarkers either for early diagnosis or for disease activity monitoring, considering the complex and still undeciphered physiopathology of HAM.

Acknowledgements

We would like to thank the Interdisciplinary HTLV Research Group (GIPH) participants, the personnel of Fundação HEMOMINAS, Hospital das Clínicas, and Universidade Federal de Minas Gerais for their collaboration in this study.

References

1. Gessain, A. et al. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet*. 1985; 2: 407–410.
2. Osame, M. et al. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet*. 1986; 1: 1031–1032.
3. Kaplan, J. E. et al. The risk of development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-I. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr*. 1990; 3:1096–1101.
4. Murphy, E. L. et al. HTLV-associated myelopathy in a cohort of HTLV-I and HTLV-II-infected blood donors. The REDS investigators. *Neurology*. 1997; 48: 315–320.
5. Maloney, E. M. et al. Incidence of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Jamaica and Trinidad. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol*. 1998; 17: 167–170.
6. Orland, J. R. et al. Prevalence and clinical features of HTLV neurologic disease in the HTLV Outcomes Study. *Neurology*. 2003; 61, 1588–1594 ()
7. Romanelli, L. C. et al. Incidence of human T cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis in a long-term prospective cohort study of initially asymptomatic individuals in Brazil. *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 2013; 29: 1199–1202.
8. de The, G. & Bomford, R. An HTLV-I vaccine: why, how, for whom? *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. 1993; 9: 381–386.
9. Gessain, A. & Cassar, O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. *Front. Microbiol*. 2012; 3:388.
10. Román GC, Osame M. Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. *Lancet*. 1988; 1:651.

11. Osame M. Review of WHO Kagoshima meeting and diagnostic guidelines for HAM/TSP. In: Blattner W, editor. Human retrovirology: HTLV. New York: Raven Press; 462 1990:191–7.
12. Araújo AQC, Andrade-Filho AS, Castro-Costa CM, Menna-Barreto M, Almeida SM et al. HTLV-1 Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis in Brazil: a Nationwide Survey. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1998;19(5):536-41.
13. Olindo S, Cabre P, Lézin A, Merle H, Saint-Vil Met al.. Natural history of human T-lymphotropic virus 1-associated myelopathy: a 14-year follow-up study. *Arch Neurol.* 2006; 63(11):1560-6.
14. Franzoi AC1, Araújo AQ. Disability and determinants of gait performance in tropical spastic paraparesis/HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP). *Spinal Cord.* 2007; 45(1):64-8.
15. Matsuzaki T, Nakagawa M, Nagai M, et al. HTLV-I proviral load correlates with progression of motor disability in HAM/TSP: analysis of 239 HAM/TSP patients including 64 patients followed up for 10 years. *J Neurovirol* 2001; 7: 228-34.
16. Matsuura E, Nozuma S, Tashiro Y, Kubota R, Izumo S, Takashima H. HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): A comparative study to identify factors that influence disease progression. *J Neurol Sci.* 2016; 371: 112-116.
17. Franzoi, A. C. & Araujo, A. Q. Disability profile of patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis using the Functional Independence Measure (FIM). *Spinal Cord* 2005; 43: 236–240.
18. Martin F, Fedina A, Youshya S, Taylor GP. A 15-year prospective longitudinal study of disease progression in patients with HTLV-1 associated myelopathy in the UK. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 2010;12:1336-40.
19. Labanca L, Starling AL, de Sousa-Pereira SR, Romanelli LC, de Freitas Carneiro-Proietti AB, Carvalho LN, Fernandes DR et al. Electrophysiological analysis shows dizziness as the first symptom in human T cell lymphotropic virus type-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2015; 6: 649-654.

20. Tanajura D, Castro N, Oliveira P, Neto A, Muniz A, Carvalho NB et al. Neurological Manifestations in Human T-Cell Lymphotropic Virus Type 1 (HTLV-1)-Infected Individuals Without HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis: A Longitudinal Cohort Study. *Clin Infect Dis*. 2015; 61(1):49-56.
21. Castillo, J. L., Cea, J. G., Verdugo, R. J. & Cartier, L. Sensory dysfunction in HTLV-I-associated myelopathy/ tropical spastic paraparesis. A comprehensive neurophysiological study. *Eur. Neurol*. 1999; 42: 17–22.
22. Takatani M, Crispim ME, Fraiji N, Stefani MM, Kiesslich D. Clinical and laboratory features of HTLV-I asymptomatic carriers and patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis from the Brazilian Amazon. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2017; 3;59:e5.
23. Oliveira, P. et al. Prevalence of erectile dysfunction in HTLV-1-infected patients and its association with overactive bladder. *Urology*. 2010; 75: 1100–1103.
24. Araujo AQ, Leite AC, Dultra SV, Andrada-Serpa MJ. Progression of neurological disability in HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP). *J Neurol Sci*. 1995;129:147-151
25. Vernant JC, Maurs L, Gessain A, Barin F, Gout O, Delaporte JM et al.. Endemic tropical spastic paraparesis associated with human T-lymphotropic virus type I: a clinical and seroepidemiological study of 25 cases. *Ann Neurol*. 1987; 21: 123-130.
26. Montgomery RD, Cruickshank EK, Robertson WB, et al. Clinical and pathological observations on Jamaican neuropathy: a report on 206 cases. *Brain*. 1964; 87: 425-462.
27. Martins ML, Guimarães JC, Ribas JG, Romanelli LC, de Freitas Carneiro-Proietti AB. Long-term follow-up of HTLV-1 proviral load in asymptomatic carriers and in incident cases of HAM/TSP: what is its relevance as a prognostic marker for neurologic disease? *J Neurovirol*. 2017; 1:125-133.
28. Caiafa RC, Orsini M, Felicio LR, Puccioni-Sohler M. Muscular weakness represents the main limiting factor of walk, functional independence and quality of life of myelopathy patients associated to HTLV-1. *Arq Neuropsiquiatr*. 2016; 74(4): 280-286.

29. Britto VL, Correa R, Vincent MB. Proprioceptive neuromuscular facilitation in HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014; 47(1):24-9.
30. Adonis A, Taylor GP. Assessing Walking Ability in People with HTLV-1-Associated Myelopathy Using the 10 Meter Timed Walk and the 6 Minute Walk Test. *PLoS One.* 2016; 11(6): e0157132.
31. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology.* 1983; 33: 1444–1452.
32. Alvarez C, Verdonck K, Tipismana M, Gotuzzo E. A Peruvian family with a high burden of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *BMJ Case Rep.* 2015; 2015-209619.
33. Muniz AL, Rodrigues W Jr, Santos SB, de Jesus AR, Porto AF, Castro N, Oliveira-Filho J, Almeida JP, Moreno-Carvalho O, Carvalho EM. Association of cytokines, neurological disability, and disease duration in HAM/TSP patients. *Arq Neuropsiquiatr.* 2006; 64(2A):217-21.
34. Schütze M1, Romanelli LC2, Rosa DV1, Carneiro-Proietti AB3, Nicolato R4, Romano-Silva MA4, Brammer M5, de Miranda DM6. Brain Metabolism Changes in Patients Infected with HTLV-1. *Front Mol Neurosci.* 2017; 10: 52.
35. Izumo S, Goto I, Itoyama Y, et al. Interferon-alpha is effective in HTLV-1-associated myelopathy: a multicenter, randomized, double-blind, controlled trial. *Neurology* 1996; 46: 1016-1021.
36. Iles JF, Ali AS, Savic G. Vestibular-evoked muscle responses in patients with spinal cord injury. *Brain.* 2004; 127: 1584-1592.
37. Liechti M, Müller R, Lam T, Curt A. Vestibulospinal responses in motor incomplete spinal cord injury. *Clin Neurophysiol.* 2008; 119: 2804-2812.
38. Felipe L1, Kingma H, Lambertucci JR, Carneiro-Proietti AB, Gonçalves DU. Testing the vestibular evoked myogenic potential (VEMP) to identify subclinical neurological

- alterations in different phases of human T-lymphotropic virus type 1 infection. *Spine J*. 2013; 13(4): 397-401.
39. Matos Cunha LC, Campelo Tavares M, Tierra Criollo CJ, Labanca L, Cardoso Dos Santos Couto Paz C et al. Contribution of Galvanic Vestibular Stimulation for the Diagnosis of HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *J Clin Neurol*. 2013; 9: 252-258.
 40. Caporali JFM, Gonçalves DU, Labanca L, Oliveira LD, Trindade GVM et al. Vestibular evoked myogenic potential (VEMP) triggered by galvanic vestibular stimulation (GVS): a promising tool to assess spinal cord function in Schistosomal Myeloradiculopathy. *PLoS Negl Trop Dis*. 2016;10(4):e0004672.
 41. Watson SR, Colebatch JG. Vestibular-evoked electromyographic responses in soleus: a comparison between click and galvanic stimulation. *Exp Brain Res*. 1998; 119: 504–510.
 42. Britton TC, Day BL, Brown P, Rothwell JC, Thompson PD, Marsden CD. Postural electromyographic responses in the arm and leg following galvanic vestibular stimulation in man. *Exp Brain Res*. 1993; 94: 143–151.
 43. Fitzpatrick, R. C.; Burke, D.; Gandevia, S. C. Task-dependent reflex responses and movement illusions evoked by galvanic vestibular stimulation in standing humans. *J Physiol*. 1994; 15(478): 363-372.
 44. Fitzpatrick RC, Day BL. Probing the human vestibular system with galvanic stimulation. *J Appl Physiol*. 2004; 96: 2301-2316.
 45. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA*. 2013; 310(20): 2191-2194
 46. Gonçalves DU, Proietti FA, Ribas JG, Araújo MG, Pinheiro SR, Guedes AC, et al. Epidemiology, treatment, and prevention of human T-cell leukemia virus type 1-associated diseases. *Clin Microbiol Rev*. 2010; (3): 577-589.

47. Catalan-Soares B, Carneiro-Proietti AB, Proietti FA; Interdisciplinary HTLV Research Group. Heterogeneous geographic distribution of human T-cell lymphotropic viruses I and II (HTLV-I/II): serological screening prevalence rates in blood donors from large urban areas in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2005; 21(3): 926-931.
48. Carneiro-Proietti AB, Ribas JG, Catalan-Soares BC, Martins ML, Brito-Melo GE, Martins-Filho O, et al. Infecção e doença pelos vírus linfotrópicos humanos de células T (HTLV-I/II) no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2002; 35(5): 499-508.
49. Reiss DB, Freitas GS, Bastos RHC, de Souza MA, Horiguchi CLF, Martins ML, et al. Neurological outcomes analysis of HTLV-1 seropositive patients of the Interdisciplinary Research HTLV Group (GIPH) cohort, Brazil. *Retrovirology*. 2014; 11(Suppl 1): 51.
50. Starling AL, Coelho-Dos-Reis JG, Peruhype-Magalhães V, Pascoal-Xavier MA, Gonçalves DU. Immunological signature of the different clinical stages of the HTLV-1 infection: establishing serum biomarkers for HTLV-1-associated disease morbidity. *Biomarkers*. 2015;20(6-7):502-512.
51. Castro-costa CMDE, Araújo AQC, Barreto MM, Takayanagui OM, Sohler MP, Silva ELMDA, et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP). *mAIDS Res Hum Retroviruses*. 2006; 22: 931–935.
52. Iwasaki, Y., Ohara, Y., Kobayashi, I. & Akizuki, S. Infiltration of helper/inducer T lymphocytes heralds central nervous system damage in human T-cell leukemia virus infection. *Am. J. Pathol*. 1992; 140: 1003–1008.
53. Guerreiro, J. B. et al. Levels of serum chemokines discriminate clinical myelopathy associated with human T lymphotropic virus type 1 (HTLV-1)/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) disease from HTLV-1 carrier state. *Clin. Exp. Immunol*. 2006; 145: 296–301.
54. Bangham CR, Araujo A, Yamano Y, Taylor GP. HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Nat Rev Dis Primers*. 2015; 1:15012.
55. Boostani R, Vakili R, Hosseiny SS, Shoeibi A, Fazeli B, Etemadi MM et al. Triple Therapy with Prednisolone, Pegylated Interferon and Sodium Valproate Improves Clinical

- Outcome and Reduces Human T-Cell Leukemia Virus Type 1 (HTLV-1) Proviral Load, Tax and HBZ mRNA Expression in Patients with HTLV-1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis. *Neurotherapeutics*. 2015; (4):887-895.
56. Buell KG, Puri A, Demontis MA, Short CL, Adonis A, Haddow J, et al. Effect of pulsed methylprednisolone on pain, in patients with HTLV-1-associated myelopathy. *PLoS One*. 2016; 11:e0152557.
 57. Coler-Reilly ALG, Sato T, Matsuzaki T, Nakagawa M, Niino M, Nagai M et al. Effectiveness of Daily Prednisolone to Slow Progression of Human T-Lymphotropic Virus Type 1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis: A Multicenter Retrospective Cohort Study. *Neurotherapeutics*. 2017; 14(4):1084-1094.
 58. Sato, T. et al. CSF CXCL10, CXCL9, and neopterin as candidate prognostic biomarkers for HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *PLoS Negl. Trop. Dis*. 2013; 7: e2479.

6 CONCLUSÕES

- a) A concordância e a confiabilidade intra-examinador, em dois testes consecutivos, das variáveis do VEMP galvânico. i.e., a resposta de curta latência (SL) e a resposta de média latência (ML) em grupo de indivíduos saudáveis com sorologia negativa para HTLV-1, indivíduos assintomáticos infectados pelo HTLV-1 e com HAM mostraram-se aceitáveis clinicamente.
- b) A concordância e a confiabilidade inter-examinador, entre dois examinadores independentes, de SL e ML, nos grupos acima descritos, mostraram-se aceitáveis clinicamente.
- c) Após 11 a 36 meses de seguimento, as respostas SL e ML ao VEMP galvânico apresentaram melhora entre os indivíduos infectados pelo HTLV-1 assintomáticos e mantiveram elevada frequência de alterações entre indivíduos com possível HAM e com HAM definida, não apresentando piora no seguimento. Alguns pacientes mostraram uma evolução eletrofisiológica diferente da prevalente em seus grupos, indicando uma heterogeneidade nesse aspecto.
- d) A correlação entre alteração no VEMP galvânico nos grupos estudados e a pontuação de sintomas neurológicos de cada participante na Escala de Incapacidade Funcional Ampliada (EDSS) e Escala de Incapacidade Motor de Osame (OMDS) foi de fraca a moderada. O padrão de melhora entre assintomáticos e de estabilidade do status alterado entre pHAM e dHAM encontrado no VEMP galvânico foi também observado em relação à pontuação na EDSS.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo demonstrou concordância e confiabilidade clinicamente aceitáveis do potencial evocado miogênico vestibular galvânico (VEMP galvânico). Em seguida, na observação longitudinal do VEMP galvânico entre os grupos estudados, o trabalho evidenciou, inesperadamente, uma melhora entre os pacientes com HTLV-1 assintomáticos. Esperava-se que aqueles que apresentassem alterações na primeira avaliação progredissem para piora eletrofisiológica e clínica na segunda avaliação. Nossa hipótese é que essas flutuações subclínicas e clínicas sejam decorrentes da atividade inflamatória na medula espinhal que pode variar dependendo da relação imunológica vírus/hospedeiro. Os fatores que estariam interferindo para a melhora ou para a piora irreversível desse desequilíbrio imunológico são ainda obscuros. Com a finalidade de observar o impacto dessas flutuações no prognóstico em longo prazo, os pacientes estão sendo acompanhados e novas avaliações seriadas com o VEMP galvânico serão realizadas. Será estudada, também, a associação entre VEMP galvânico alterado e marcadores pró-inflamatórios. Uma publicação muito importante do GIPH, tese de doutorado nesse programa da Dra. Ana Lucia Starling (STARLING et al., 2015), mostrou que os indivíduos com HAM apresentam um perfil imunológico inflamatório que não é controlado pelas citocinas regulatórias. Já os portadores assintomáticos do HTLV-1 apresentam um equilíbrio entre as citocinas inflamatórias e regulatórias.

Para finalizar, gostaria de registrar que este doutoramento levou à criação de um projeto de extensão na FM-UFMG intitulado “Atenção multidisciplinar e educação em saúde para o indivíduo com sorologia positiva para HTLV1/2”, o qual coordeno. Esse projeto foi aprovado pela Pró-Reitoria de Extensão da UFMG em abril de 2018 e integra, às atividades de ensino, pesquisa e extensão, o ambulatório de HTLV-1 iniciado pela Dr^a Ana Lúcia Staling Borges há cerca de 10 anos, no Centro de Tratamento e Referência em Doenças Infecciosas e Parasitárias (HC-UFMG / Prefeitura de Belo Horizonte), durante seu mestrado e doutorado no PPG-IMT. Este ambulatório é coordenado por mim e pela Dr^a Ana Lúcia Starling, ambas infectologistas. Contamos com a participação e assistência dos profissionais: Dr^a Denise Utsch (otoneurologista), Dr. Luiz Claudio Romanelli (neurologista), Dr. Marcelo Grossi (dermatologista), Dr Daniel Vitor Vasconcelos (oftalmologista), Dr^a Ludimila Labanca (fonoaudióloga) e Dr^a Marina Lobato Martins (bióloga). Recentemente, também foi oficializado o ambulatório de HTLV-1 no Hospital Eduardo de Menezes (FHEMIG). Os dois

ambulatórios, os únicos especializados em HTLV-1 em Minas Gerais, representam um avanço importante na rede do Sistema Único de Saúde do estado para a assistência à pessoa com HTLV-1 e para o reconhecimento da infecção e suas doenças associadas como um problema de saúde pública a ser devidamente tratado. A criação desses dois ambulatórios é fruto do trabalho e das reflexões ocorridas no GIPH e as atividades dos mesmos estão integradas com a pesquisa. Ao criar esse projeto de extensão em HTLV-1, me comprometo, enquanto docente da FM-UFMG, a dar seguimento às pesquisas desenvolvidas e propostas nesta tese, além de manter as ações de assistência, educação em saúde e difusão do conhecimento em HTLV, em parceria com os demais docentes e pesquisadores já atuantes na área.

REFERÊNCIAS

- AMINOFF J. M. Neurologic causes of weakness. In: Harrison's Principals of Internal Medicine, 19ª Edição. McGraw-Hill Education, Capítulo 30, p. 154-157, 2015.
- ANDRADE D. O., Somatosensitive and motor evoked potentials in HTLV-1 associated myelopathy. *Arq Neuropsiquiatr*, v. 63, p. 652-655, 2005.
- BARTLETT J. W., FROST. C. Reliability, repeatability and reproducibility: analysis of measurement errors in continuous variables. *Ultrasound Obstet Gynecol*, v. 31, p. 466-475, 2008.
- BRITTON, T. C. et al. Postural electromyographic responses in the arm and leg following galvanic vestibular stimulation in man. *Exp Brain Res*, v. 94(1), p. 143-51, 1993.
- BORDUCCHI, D.M.M.; KERBAUY, J.; OLIVEIRA, J.S.R. Linfoma/leucemia de células T do adulto. *Rev Ass Med Br*, v. 45, n.1, p. 63-70, 1999.
- BUSH M. L., JONES R. O., SHINN J. B. The clinical reliability of vestibular evoked myogenic potentials. *Ear Nose Throat*, v.89 (4), p. 170-176, 2010.
- CAPORALI J. F. M. et al., Vestibular Evoked Myogenic Potential (VEMP) Triggered by Galvanic Vestibular Stimulation (GVS): A Promising Tool to Assess Spinal Cord Function in Schistosomal Myeloradiculopathy. *PLoS Negl Trop Dis*, 29 Abril, 2016.
- CARMONA, S. et al., Galvanic vestibular stimulation improves the results of vestibular rehabilitation. *Ann N Y Acad Sci*, v. 1233, p.1-7, 2011.
- CASTRO-COSTA, C.M. et al. Proposal for diagnostic criteria of tropical spastic paraparesis/HTLV1-associated myelopathy (TSP/HAM); *AIDS. Res Hum Retroviruses*, v. 22, (10), p. 931-935, 2006.
- CATALAN-SOARES, B.C; PROIETTI, F.A.; CARNEIRO-PROIETTI, A.B.F. O vírus linfotrópicos de células T-humanos (HTLV) na última década (1990-2000): aspectos epidemiológicos. *Rev Bras Epidemiol*, São Paulo, v. 4, n. 2, p. 81-95, 2001.
- CATHERS, I.; DAY, B. L.; FITZPATRICK, R. C. Otolith and canal reflexes in human standing. *J Physiol*, v. 563, p. 229-34, 2005.
- CERVILLA, J.O.; CARTIER, L.R.; GARCÍA, L.F. Brain and spinal cord magnetic resonance imaging in spastic paraparesis associated to human T-lymphotropic virus. *Rev Méd Chile*, v. 134, p. 1010-18, 2006.
- COHEN, B.; YAKUSHIN, S.; HOLSTEIN, G. R. What does galvanic vestibular stimulation actually activate? *Front.Neur*, v. 2 (90), p. 1-2, 2012.
- CUNHA, L. C. et al. Contribution of galvanic vestibular stimulation in the diagnosis of HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *J Clin Neurol*, v. 9, p. 252-58, 2013.

CURTHOYS, I. S.; MACDOUGALL, H. G. What galvanic vestibular stimulation actually activates. *Front Neurol.* v. 20 (117), p. 1-4, 2012.

DAY, B. L. et al. Human body-segment tilts induced by galvanic stimulation: a vestibularly driven balance protection mechanism. *J Physiol*, v. 500 (3), p. 661-72, 1997.

DAY, B. L. Galvanic vestibular stimulation: new uses for an old tool. *J Physiol*, v. 517 (3),p. 631, 1999.

DAY, B. L.; COLE, J. Vestibular-evoked postural responses in the absence of somatosensory information. *Brain*, v. 125, p. 2081-2088, 2002.

DE THE, G. & BOMFORD, R. An HTLV-I vaccine: why, how, for whom? *AIDS Res. Hum. Retroviruses* v.9, p. 381–386, 1993.

FELIPE, L. et al. Vestibular-Evoked Myogenic Potential (VEMP) to Evaluate Cervical Myelopathy in Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I Infection. *Spine*, v. 33, n. 11, p. 1180-1184, 2008.

FELIPE, L. et al. Testing the vestibular evoked myogenic potential (VEMP) to identify subclinical neurological alterations in different phases of human T-lymphotropic virus type 1 infection. *Spine J*, v. 12, p. 1362-1369, 2012.

FERRAZ et al. Ressonância magnética na mielopatia associada ao HTLV-1: leucoencefalopatia e atrofia medular. *Arq Neuropsiquiatr*, 55, p. 728-736, 1997.

FITZPATRICK, R. C.; BURKE, D.; GANDEVIA, S. C. Task-dependent reflex responses and movement illusions evoked by galvanic vestibular stimulation in standing humans. *J Physiol*, v. 15(478), p. 363-72, 1994.

FITZPATRICK, R. C.; DAY, B. L. Probing the human vestibular system with galvanic stimulation. *J Appl Physiol*, v.96, p. 2301-16, 2004.

FRANZOI, A. C. & ARAUJO, A. Q. Disability profile of patients with HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis using the Functional Independence Measure (FIM). *Spinal Cord*, v. 43, p. 236–240, 2005.

FRANZOI AC, ARAUJO AQ. Disability and determinants of gait performance in tropical spastic paraparesis/HTLV-I associated myelopathy (HAM/TSP). *Spinal Cord*, v. 45(1), p. 64-8, 2007.

GALLO, R.C. History of the discoveries of the first human retroviruses: HTLV-1 and HTLV-2. *Oncogene*, v. 24, n. 39, p. 5926–5930, 2005.

GESSAIN, A. & CASSAR, O. Epidemiological aspects and world distribution of HTLV-1 infection. *Front. Microbiol.* V. 3, p. 388, 2012.

GESSAIN, A. et al. Antibodies to human T-lymphotropic virus type-I in patients with tropical spastic paraparesis. *Lancet* v. 2, p. 407–410, 1985.

GHANIM, Z. et al. Effects of galvanic mastoid stimulation in seated human subjects. *J Appl Physiol*, v. 106, p. 893-903, 2009.

GOTUZZO, E. et al. Human T-cell lymphotropic virus-1 in Latin America. *Infect Dis Clin North Am*, v. 14, n. 1, p. 211-239, 2000.

GRILLNER, S.; HONGO, T.; LUND, S. Convergent effects on alpha motoneurons from the vestibulospinal tract and a pathway descending in the medial longitudinal fasciculus. *Exp Brain Res*, v. 12, p. 457-79, 1971.

HENEINE, W.; KHABBAZ, R. Sensitive and Specific Polymerase Chain Reaction Assays for Diagnosis of Human T-Cell Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) and HTLV-II Infections in HTLV-I/II-Seropositive Individuals. *J. Clin. Microbiol.*, v. 30, p. 1605-1607, 1992.

ILES, J. F.; ALI, A. S.; SAVIC, G. Vestibular-evoked muscle responses in patients with spinal cord injury. *Brain*, v.127(7), p.1584-1592, 2004.

INUKAI Y., et al. Influence of transcranial direct current stimulation to the cerebellum on standing posture control. *Front Hum Neurosci*. v. 10, 325, 2016.

ISARADISAIKUL et al., Reliability of vestibular evoked myogenic potentials in healthy subjects. *Otol Neurotol*, v. 29(4), p.542-544, 2008;

IWASAKI, Y. Human T cell leukemia virus type 1 infection and chronic myelopathy; *Brain Pathol*, v. 3, p. 1-10, 1993.

JOHNSON, R.T. Emerging viral infections of the nervous system. *J NeuroVirol*, v. 9, p. 140-147, 2003.

KAPLAN, J. E. et al. The risk of development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-I. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr*. v. 3, p. 1096-1101; 1990.

KARNATH, H. O.; DIETERICH, M. Spatial neglect-a vestibular disorder? *Brain*, v. 129 (2), p. 293-305; 2006.

KIRA J. et al. Leukoencephalopathy in HTLV-1-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis: MRI analysis and a two year follow-up study after corticosteroid therapy. *J Neurol Sci*, v. 106, p. 41-49, 1991.

KIM J.; CURTHOYS I. S. Responses of primary vestibular neurons to galvanic vestibular stimulation (GVS) in the anaesthetised guinea pig. *Brain Res Bull*, v. 64(3), p. 265-71, 2004.

KURODA et al. A follow-up study on spastic paraparesis in Japanese HAM/TSP. *J Neurol Sci*, v. 132, p. 174-176, 1995.

LABANCA, L. Potencial evocado miogênico vestibular por estimulação galvânica e potenciais evocados auditivos de longa latência na mielopatia associada ao HTLV-1. Tese de doutorado, 2016.

- LAL, R.B. et al. Sensitivity and specificity of a recombinant transmembrane glycoprotein (rgp21)-spiked Western immunoblot for serological confirmation of human T-cell lymphotropic virus type I and type II infections. *J Clin Microbiol*, v. 30, n. 2, p. 296-299, 1992.
- LIECHTI, M. et al. Vestibulospinal responses in motor incomplete spinal cord injury. *Clin Neurophysiol*, v. 119(12), p. 2804-12, 2008.
- LOBEL, E. et al. Functional MRI of galvanic vestibular stimulation. *J Neurophysiol*, v. 80, p. 2699–709, 1998.
- MACKENZIE C. et al. Reliability of Early Cortical Auditory Gamma-Band Responses. *Clin Neurophysiol*, v. 124 (1), p. 70-82, 2013.
- MALONEY, E. M. et al. Incidence of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP) in Jamaica and Trinidad. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* v.17, p. 167–170; 1998.
- MATSUURA E et al. HTLV-1 associated myelopathy/tropical spastic paraparesis (HAM/TSP): A comparative study to identify factors that influence disease progression. *J Neurol Sci*, v. 371, p. 112-6, 2016.
- MATSUZAKI T. et al. HTLV-I proviral load correlates with progression of motor disability in HAM/TSP: analysis of 239 HAM/TSP patients including 64 patients followed up for 10 years. *J Neurovirol*, v. 7, p. 228-34, 2001.
- MCHUGH ML. Interrater reliability: the kappa statistic. *Biochem Med.* v.3, p. 276–282, 2012
- MELO A. et al. Magnetic resonance imaging in HTLV-1-associated myelopathy. *Arq Neuropsiquiatr* v. 51, p. 329-232, 1993.
- MILAGRES, A. et al. Human T cell lymphotropic virus type 1- associated myelopathy in São Paulo, Brazil: Epidemiologic and clinical features of a university hospital cohort. *Neuroepidemiology*, v. 21, n. 3, p. 153-158, 2002.
- MORITOYO et al., Study of lower limb somatosensory evoked potentials in 96 cases of HTLV-1-associated myelopathy / tropical spastic paraparesis. *J Neurol Sci*, v. 138, p. 78-81, 1996.
- MUISE, S. B, et al. Reduced input from foot sole skin through cooling differentially modulates the short latency and medium latency vestibular reflex responses to galvanic vestibular stimulation. *Exp Brain Res* v. 218, p. 63–71, 2012.
- MURPHY, E. L. et al. HTLV-associated myelopathy in a cohort of HTLV-I and HTLV-II-infected blood donors. The REDS investigators. *Neurology*, v. 48, p. 315–320, 1997.
- NAKAMURA, J. et al. Effects of galvanic vestibular stimulation combined with physical therapy on pusher behavior in stroke patients: a case series. *NeuroRehabilitation*, v. 35(1), p. 31-7, 2014.

OLINDO S. et al. Natural history of human T-lymphotropic virus 1-associated myelopathy: a 14-year follow-up study. *Arch Neurol*, v. 63(11), p. 1560-6, 2006.

OSAME, M. et al. HTLV-I associated myelopathy, a new clinical entity. *Lancet* v.1, p. 1031–1032, 1986.

ORLAND, J.R. et al. Prevalence and clinical features of HTLV neurologic disease in the HTLV Outcomes Study. *Neurology*, v. 61, p. 1588-1594, 2003.

POIESZ, B.J. et al. Detection and isolation of type C retrovirus particles from fresh and cultured lymphocytes of a patient with cutaneous T-cell lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA*, v. 77, n. 12, p. 7315-7319, 1980.

PROIETTI, A. B. F. C.; FUNDAÇÃO CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE MINAS GERAIS. Cadernos Hemominas - HTLV. 5. ed. Belo Horizonte: Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia de Minas Gerais, 2011

ROMÁN GC, OSAME M. Identity of HTLV-I-associated tropical spastic paraparesis and HTLV-I-associated myelopathy. *Lancet*, v.1, p. 651, 1988.

ROMANELLI, L. C. F., et al. Incidence of Human T Cell Lymphotropic Virus Type 1-Associated Myelopathy/Tropical Spastic Paraparesis in a Long-Term Prospective Cohort Study of Initially Asymptomatic Individuals in Brazil. *AIDS Res Hum Retroviruses*, v. 29(9), p.1199-1202, 2013.

ROMANELLI, L. C. F. et al. Manifestações Neurológicas Associadas ao Vírus HTLV-1. Cadernos Hemominas – HTLV, v 16, p189-218, 2015.

RUDOLPH, D. L. et al. Detection of human T-lymphotropic virus type-I/II env antibodies by immunoassays using recombinant fusion proteins. *Diagn.Microbiol Infect.Dis.*, v. 17, p. 35-39, 1993.

SANTOS, F.L.N.; LIMA, F.W.M. Epidemiologia, fisiopatogenia e diagnóstico laboratorial da infecção pelo HTLV-1. *J Bras Patol Med Lab*, v. 41, n. 2, p. 105-116, 2005.

SCHMIDT, L. M. A. et al. Galvanic vestibular stimulation improves arm position sense in spatial neglect: a sham-stimulation-controlled study. *Neurorehabil Neural Repair*, v. 27(6), p. 497-506, 2013.

SHIMIZU et al., Clinical and physiological significance of abnormally prolonged central motor conduction time in HAM/TSP. *J Neurol Sci*, v. 185, p. 39-42, 2001.

STARLING AL et al. Immunological signature of the different clinical stages of the HTLV-1 infection: establishing serum biomarkers for HTLV-1-associated disease morbidity. *Biomarkers*. v. 20 (6-7); p. 502-12, 2015.

SUGA R. et al. Motor and somatosensory evoked potential findings in HTLV-1-associated myelopathy. *J Neurol Sci*, v. 167, p. 102-106, 1999.

TAYLOR, G.P.; MATSUOKA, M. Natural history of adult T-cell leukemia/ lymphoma and approaches to therapy. *Oncogene*, v. 24, n. 39, p. 6047–6057, 2005.

UMEHARA F. et al., Abnormalities of spinal magnetic resonance images implicate clinical variability in human T-cell lymphotropic virus type 1-associated myelopathy. *J Neurovirol*, v. 13, p. 260-270, 2007.

UTZ, K. S. et al. Minor adverse effects of galvanic vestibular stimulation in persons with stroke and healthy individuals. *Brain Inj.* v. 25(11), p. 1058-69, 2011.

VANSPAUWEN R., WUYTS F. L., VAN DE HEYNING P.H., Vestibular evoked myogenic potentials: test-retest reliability and normative values obtained with a feedback method for the sternocleidomastoid muscle contraction. *J Vestib Res*, v.19(3-4), p.127-35, 2009.

VET HCW et al.. When to use agreement versus reliability measures. *J Clin Epidemiol.* v. 59, p. 1033-1039, 2006.

VOCABULÁRIO INTERNACIONAL DE METROLOGIA: Conceitos fundamentais e gerais e termos associados (VIM 2012). Duque de Caxias, RJ : INMETRO, 2012.

WELGAMPOLA, M. S.; COLEBATCH, J. G. Selective effects of ageing on vestibular-dependent lower limb responses following galvanic stimulation. *Clin Neurophysiol*, v.113, p. 528-34, 2002.

WIETHOFF S. HAMADA M., ROTHWELL J. C., Variability in Response to Transcranial Direct Current Stimulation of the Motor Cortex. *Brain Stimul*, v. 7, p. 468-475, 2014.

WILKINSON, D. et al. Galvanic vestibular stimulation in hemi-spatial neglect. *Front Integr Neurosci*, v. 8 (4), p. 1-12, 2014.

YAMANO, Y. et al. Correlation of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) mRNA with proviral DNA load, virus-specific CD8⁺ T cells, and disease severity in HTLV-1-associated myelopathy (HAM/TSP). *BLOOD*, v. 99, n.1, p. 88-94, 2002.

YOSHIDA, M.; JEANG, K.T. Preface to 25 years of HTLV-1 and ATL research. *Oncogene*, v. 24, p. 5925, 2005.

ZHENG, Y et al. Galvanic vestibular stimulation impairs cell proliferation and neurogenesis in the rat hippocampus but not spatial memory *Hippocampus*. v.5, p. 541-52,. 2014.

ANEXO 1

Universidade Federal de Minas Gerais
Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG - COEP

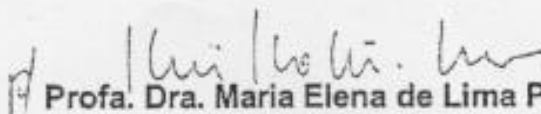
Parecer nº. ETIC 266/05

Interessada: Profa. Dra. Denise Utsch Gonçalves
Depto. de Oftalmologia
Faculdade de Medicina-UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP aprovou no dia 29 de março de 2005, depois de atendidas as solicitações de diligência, o projeto de pesquisa intitulado « **Avaliação do Potencial Evocado Miogênico Vestibular e da Estimulação Vestibular Galvânica no Diagnóstico Precoce da Mielopatia Associado ao Vírus Linfotrópico de Células T do Tipo I – HTLV-1/ Paraparesia Espástica Tropical – HAM/TSP** » bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG

ANEXO 2



Fundação Centro
de Hematologia e
Hemotransfusão de
Minas Gerais

HEMOMINAS

Belo Horizonte, 13 de março de 2006

OFÍCIO Nº 11/2006
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FUNDAÇÃO HEMOMINAS

Senhora Pesquisadora, Denise Utsch Gonçalves

Encaminhamos o parecer consubstanciado referente ao seu projeto de pesquisa "Avaliação do potencial evocado miogênico vestibular e da estimulação vestibular galvânica no diagnóstico precoce da mielopatia associada ao vírus linfotrópico de células T do tipo 1 – HTLV-1 / paraparesia espástica tropical – HAM/TSP ", nº de registro 131. Uma vez que o seu projeto foi aprovado por nosso Comitê, esclarecemos que a partir deste momento sua pesquisa pode ser desenvolvida no âmbito da Fundação Hemominas. Desejamos boa sorte e sucesso em seu estudo.

Atenciosamente.

Marina Lobato Martins

Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa
Fundação Hemominas

ANEXO 3

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO – Voluntário saudável

CONVITE PARA PARTICIPAR

Você está sendo convidado para participar como voluntário da pesquisa: “PEMV-G, PEATE e P-300 PARA AVALIAR A EVOLUÇÃO DA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-1”. O HTLV-1 é um vírus que não causa nenhum sintoma na grande maioria das pessoas que são portadoras, mas em algumas dessas pessoas ele pode causar problemas neurológicos, entre outros. O objetivo dessa pesquisa é descobrir se os exames PEMV-G, PEATE e P-300 são capazes de detectar as alterações no sistema nervoso central de uma pessoa que tem o HTLV-1 que não tem nenhum sintoma ou que tem sintomas leves e observar, ao longo do tempo, se as alterações nos exames ajudarão a prever os pacientes que apresentarão uma piora no futuro. Dessa maneira, poderemos acompanhar mais de perto essas pacientes. Para definirmos se os exames podem ajudar no acompanhamento desses pacientes, é necessário realizá-los em pessoas saudáveis sem o HTLV-1 para comparar os resultados com os resultados dos pacientes. Antes de tomar qualquer decisão, você deve ler esse documento que explica os detalhes da pesquisa.

SUA PARTICIPAÇÃO

Caso você aceite o convite, sua participação na pesquisa consistirá em ser entrevistado e examinado por um médico pesquisador e então fazer os exames PEMV-G, PEATE e P-300. Você será chamado para repetir esse procedimento mais duas vezes: daqui a um ano e daqui a dois anos. Os detalhes dos procedimentos serão explicados pelo pesquisador antes da assinatura deste termo.

RISCOS E BENEFÍCIOS DA PARTICIPAÇÃO

Os riscos dos exames são mínimos. No PEMV-G, você poderá sentir apenas um choquinho, como um formigamento atrás da orelha onde será colocado um adesivo. Poderá sentir também um desequilíbrio passageiro durante o estímulo. Após o término do exame você não sentirá mais nada. Esse exame é usado regularmente em algumas áreas da saúde e sua segurança está bem comprovada. Se você é portador de **MARCA-PASSO**, você não pode participar do estudo, pois o exame pode interferir com o funcionamento do dispositivo. Os exames PEAT e P-300 são exames que avaliam a audição e seus reflexos no sistema nervoso central. Lhe será solicitado ouvir alguns sons durante algum tempo, com nenhum desconforto ou desconforto mínimo.

Essa pesquisa não trará nenhum benefício para você de imediato, mas poderá trazer benefícios para todos os pacientes com HTLV-1 no futuro. A participação é voluntária e você não receberá qualquer pagamento por sua participação neste estudo. Será mantido o caráter confidencial das informações coletadas de cada participante. Os resultados serão tornados públicos sem a identificação dos participantes por nome. Se você quiser desistir da pesquisa, poderá fazê-lo a qualquer momento, sem qualquer problema, basta comunicar sua vontade ao pesquisador.

Pesquisadores: Dra. Denise Utsch Gonçalves, Dra. Júlia Caporali, Dra. Ludimila Labanca

Centro de Pesquisa: Faculdade de Medicina da UFMG. Avenida Alfredo Balena, 190. Contato: (31) 9192-6849 (Dra. Júlia).

CONSENTIMENTO

De posse dos esclarecimentos sobre os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa, concordo em assinar e datar esse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Receberei uma cópia assinada desse documento.

Nome legível do sujeito da pesquisa

Assinatura do sujeito da pesquisa

Data

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Comitê de Ética em Pesquisa: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 2005. Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG. Tel: 3409-4592

ANEXO 4

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - Paciente do GIPH

CONVITE PARA PARTICIPAR

Você está sendo convidado para participar como voluntário da pesquisa: “*PEMV-G, PEATE e P-300 PARA AVALIAR A EVOLUÇÃO DA MIELOPATIA ASSOCIADA AO HTLV-1*”. O objetivo dessa pesquisa é descobrir se os exames PEMV-G, PEATE e P-300 são capazes de detectar as alterações no sistema nervoso central de uma pessoa que tem o HTLV-1 que não tem nenhum sintoma ou que tem sintomas leves e observar, ao longo do tempo, se as alterações nos exames ajudarão a prever os pacientes que apresentarão uma piora no futuro. Dessa maneira, poderemos acompanhar mais de perto essas pacientes. Antes de tomar qualquer decisão, você deve ler esse documento que explica os detalhes da pesquisa. Seu tratamento e acompanhamento médico não serão de forma alguma afetados pela sua decisão de participar ou não.

SUA PARTICIPAÇÃO

Caso você aceite o convite, sua participação na pesquisa consistirá em ser entrevistado e examinado por um médico pesquisador e então fazer os exames PEMV-G, PEATE e P-300. Você será chamado para repetir esse procedimento mais duas vezes: daqui a um ano e daqui a dois anos. Os detalhes dos procedimentos serão explicados pelo pesquisador antes da assinatura deste termo.

RISCOS E BENEFÍCIOS DA PARTICIPAÇÃO

Os riscos dos exames são mínimos. No PEMV-G, você poderá sentir apenas um choquinho, como um formigamento no couro cabeludo; poderá sentir também um desequilíbrio passageiro durante o estímulo. Após o término do exame você não sentirá mais nada. Esse exame é usado regularmente em algumas áreas da saúde e sua segurança está bem comprovada. Se você é portador de **MARCA-PASSO**, você não pode participar do estudo, pois o exame pode interferir com o funcionamento do dispositivo. Os exames PEATE e P-300 são exames que avaliam a audição e seus reflexos no sistema nervoso central. Lhe será solicitado ouvir alguns sons durante algum tempo, com nenhum desconforto ou desconforto mínimo.

Caso seus exames se mostrem alterados, você receberá o seguimento adequado. Os resultados da pesquisa podem trazer benefícios para todos os pacientes com HTLV-1 no futuro. A participação é voluntária e você não receberá qualquer pagamento por sua participação neste estudo. Será mantido o caráter confidencial das informações coletadas de cada participante. Os resultados serão tornados públicos sem a identificação dos participantes por nome. Se você quiser desistir da pesquisa, poderá fazê-lo a qualquer momento, sem que isso interfira no seu acompanhamento médico no ambulatório, basta comunicar sua vontade ao pesquisador.

Pesquisadores: Dra. Denise Utsch Gonçalves, Dra. Júlia Caporali, Dra. Ludimila Labanca

Centro de Pesquisa: Faculdade de Medicina da UFMG. Avenida Alfredo Balena, 190. Contato: (31) 9192-6849 (Dra. Júlia).

CONSENTIMENTO

De posse dos esclarecimentos sobre os objetivos, riscos e benefícios da pesquisa, concordo em assinar e datar esse Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. Receberei uma cópia assinada desse documento.

Nome legível do sujeito da pesquisa

Assinatura do sujeito da pesquisa

Data

Assinatura do pesquisador responsável

Data

Comitê de Ética em Pesquisa: Av. Antônio Carlos, 6627. Unidade Administrativa II – 2º andar – Sala 2005. Campus Pampulha, Belo Horizonte, MG. Tel: 3409-4592

ANEXO 5

ESCALA EXPANDIDA DO ESTADO DE INCAPACIDADE - EDSS

A Escala Expandida do Estado de Incapacidade de Kurtzke (1983) (EDSS) é um método de quantificar as incapacidades ocorridas durante a evolução da esclerose múltipla ao longo do tempo. A escala EDSS quantifica as incapacidades em oito sistemas funcionais (SF) ***.

Escore	Características
0	Exame neurológico normal (todos os SF grau 0; cerebral, grau 1 aceitável)
1,0	Sem incapacidade (1 SF grau 1)
1,5	Sem incapacidade (2 SF grau 1)
2,0	Incapacidade mínima em 1 SF (1 SF grau 2, outros grau 0 ou 1)
2,5	Incapacidade mínima em 2 SF (2 SF grau 2, outros grau 0 ou 1)
3,0	Incapacidade moderada em 1 SF (1 SF grau 3, outros grau 0 ou 1) ou incapacidade discreta em 3 ou 4 SF (3/4 SF grau 2, outros grau 0 ou 1). Deambulando plenamente.
3,5	Deambulação plena, com incapacidade moderada em 1SF (1 SF grau 3) e 1 ou 2 SF grau 2; ou 2SF grau 3; ou 5 SF grau 2 (outros 0 ou 1)
4,0	Deambulação plena, até 500 m sem ajuda ou descanso (1 SF grau 4, outros 0 ou 1)
4,5	Deambulação plena, até 300 m sem ajuda ou descanso. Com alguma limitação da atividade ou requer assistência mínima (1 SF grau 4, outros 0 ou 1)
5,0	Deambulação até 200 m sem ajuda ou descanso. Limitação nas atividades diárias (equivalentes são 1 SF grau 5, outros 0 ou 1; ou combinação de graus menores excedendo o escore 4.0)
5,5	Deambulação até 100 m sem ajuda ou descanso. Incapacidade impedindo atividades plenas diárias (equivalentes são 1SF grau 5, outros 0 ou 1; ou combinações de graus menores excedendo o escore 4.0)
6,0	Assistência intermitente ou com auxilio unilateral constante de bengala, muleta ou suporte (equivalentes são mais que 2 SF graus 3+)
6,5	Assistência bilateral (equivalentes são mais que 2 SF graus 3+)
7,0	Não anda 5 m mesmo com ajuda. Restrito a cadeira de rodas. Transfere da cadeira para cama (equivalentes são combinações com mais que 1 SF 4+, ou piramidal grau 5 isoladamente)
7,5	Consegue apenas dar poucos passos. Restrito á cadeira de rodas. Necessita ajuda para transferir-se (equivalentes são combinações com mais que 1 SF grau 4+)

Escore	Características
8,0	Restrito ao leito, mas pode ficar fora da cama. Retém funções de autocuidado; bom uso dos braços (equivalentes são combinações de vários SF grau 4+)
8,5	Restrito ao leito constantemente. Retém algumas funções de autocuidade e dos braços (equivalentes são combinações de vários SF grau 4+)
9	Paciente incapacitado no leito. Pode comunicar, não come, não deglute (equivalentes é a maioria de SF grau 4+)
9,5	Paciente totalmente incapacitado no leito. Não comunica, não come, não deglute (equivalentes são quase todos de SF grau 4+)
10	Morte por esclerose múltipla

***** SISTEMA FUNCIONAIS (SF) PARA A ESCALA EXPANDIDA DO ESTADO DE INCAPACIDADE**

Funções Piramidais

- 0. Normal
- 1. Sinais anormais sem incapacidade motora
- 2. Incapacidade mínima
- 3. Discreta ou moderada paraparesia ou hemiparesia; monoparesia grave
- 4. Paraparesia ou hemiparesia acentuada; quadriparesia moderada; ou monoplegia
- 5. Paraplegia, hemiplegia ou acentuada quadriparesia
- 6. Quadriplegia
- V. Desconhecido

Funções Cerebelares

- 0. Normal
- 1. Sinais anormais sem incapacidade
- 2. Ataxia discreta em qualquer membro
- 3. Ataxia moderada do tronco ou de membros
- 4. Incapaz de realizar movimentos coordenados devido á ataxia
- V. Desconhecido

Funções do Tronco Cerebral

- 0. Normal
- 1. Somente sinais anormais
- 2. Nistagmo moderado ou outra incapacidade leve
- 3. Nistagmo grave, acentuada paresia extraocular ou incapacidade moderada de outros cranianos
- 4. Disartria acentuada ou outra incapacidade acentuada
- 5. Incapacidade de deglutir ou falar
- V. Desconhecido

Funções Sensitivas

- 0. Normal
- 1. Diminuição de sensibilidade ou estereognosia em 1-2 membros
- 2. Diminuição discreta de tato ou dor, ou da sensibilidade posicional, e/ou diminuição moderada da vibratória ou estereognosia em 1-2 membros; ou diminuição somente da vibratória em 3-4membros. Diminuição moderada de tato ou dor, ou posicional, e/ou perda da vibratória em 1-2 membros; ou diminuição discreta de tato ou dor, e/ou diminuição moderada de toda propriocepção

- em 3-4 membros
- 3. Diminuição acentuada de tato ou dor, ou perda da propriocepção em 1-2 membros, ou diminuição moderada de tato ou dor e/ou diminuição acentuada da propriocepção em mais de 2 membros
- 4. Perda da sensibilidade de 1-2 membros; ou moderada da diminuição de tato ou dor e/ou perda da propriocepção na maior parte do corpo abaixo da cabeça
- V. Desconhecido

Funções Vesicais

- 0. Normal
- 1. Sintomas urinários sem incontinência
- 2. Incontinência {ou igual uma vez por semana
- 3. Incontinência }ou igual uma vez por semana
- 4. Incontinência diária ou mais que 1 vez por dia
- 5. Caracterização contínua
- 6. Grau para bexiga e grau 5 para disfunção retal
- V. Desconhecido

Funções intestinais

- 0. Normal
- 1. < obstipação diária e sem incontinência
- 2. Obstipação diária sem incontinência
- 3. Obstipação < uma vez por semana
- 4. Incontinência > uma vez por semana mas não diária
- 5. Sem controle de esfíncter retal
- 6. Grau 5 para bexiga e grau 5 para disfunção retal
- V. Desconhecido

Funções Visuais

- 0. Normal
- 1. Escotoma com acuidade visual (AV) igual ou melhor que 20/30
- 2. Pior olho com escotoma e AV de 20/30 a 20/59
- 3. Pior olho com grande escotoma, ou diminuição moderada dos campos, mas com AV de 20/60 a 20/99
- 4. Pior olho com diminuição acentuada dos campos e AV de 20/100 a 20/200; ou grau 3 com AV do melhor olho igual ao menor que 20/60
- 5. Pior olho com AV menor que 20/200; ou grau 4 com AV do melhor olho igual ao menor que 20/60
- 6. Grau 5 com AV do melhor olho igual ou menor que 20/60
- V. Desconhecido

Funções mentais

- 0. Normal
- 1. Alterações apenas do humor
- 2. Diminuição discreta da mentação
- 3. Diminuição normal da mentação
- 4. Diminuição acentuada da mentação (moderada síndrome cerebral crônica)
- 5. Demência ou grave síndrome cerebral crônica
- V. Desconhecido

Outras funções

- 0. Nenhuma
- 1. Qualquer outro achado devido à EM
- 2. Desconhecido

ANEXO 6

ESCALA DE INCAPACIDADE MOTORA REVISADA DE OSAME
(IZUMO et al., 1996)

0	Deambula e corre normalmente
1	Marcha normal mas corre lentamente
2	Marcha anormal (vacilante ou espástica)
3	Marcha anormal e incapacidade para correr
4	Necessita apoio para usar escadas mas deambula sem auxilio
5	Necessita apoio em uma das mãos para deambular
6	Necessita apoio nas duas mãos para deambular
7	Incapaz para deambular embora engatilhe
8	Incapaz de engatilhar embora mude posição no leito
9	Incapaz de mudar a posição no leito embora mova os dedos
10	Completamente restrito ao leito

ANEXO 7

QUESTIONÁRIO

IDENTIFICAÇÃO

ID _____
 IDPESQUISA _____
 DATA DO EXAME ____/____/____
 NOME _____

SEXO _____
 ENDEREÇO _____

CEP _____
 TELEFONE _____ TELEFONE _____
 TELEFONE _____
 E-MAIL _____

NATURALIDADE _____

DATA DE NASCIMENTO ____/____/____
 IDADE _____
 ESCOLARIDADE ANOS _____
 ESCOLARIDADE CATEGORIA _____
 PROFISSÃO _____
 CRITÉRIO BRASIL _____
 SIT SOCIO ECO CATEGORIA _____
 ESTADO CIVIL _____
 PESO _____
 ALTURA _____
 PA SISTÓLICA _____
 PA DIASTÓLICA _____
 FC _____ bpm
 HORAS DE SONO NA NOITE ANTERIOR _____
 MÃO DOMINANTE _____
 GRUPO _____

SAÚDE GERAL _____

MEDICAMENTO _____
 SE SIM, QUAL _____

SINTOMA NA CABEÇA _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA NOS OLHOS _____
 SE SIM, DESCREVA _____

PERDA AUDITIVA _____
 SE SIM, DESCREVA _____

ZUMBIDO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

TONTURA _____
 SE SIM, DESCREVA _____

CONVULSÃO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA NO INTESTINO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA SISTEMA URINÁRIO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA SISTEMA GENITAL FEMININO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA SISTEMA GENITAL MASCULINO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA RESPIRATÓRIO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA HEMATOLÓGICO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA METABÓLICO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA SISTEMA CARDIOVASCULAR _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA NO CORPO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA NOS BRAÇOS _____
 SE SIM, DESCREVA _____

SINTOMA NAS PERNAS _____
 SE SIM, DESCREVA _____

CIRURGIA _____
 SE SIM, DESCREVA _____

VERMES _____
 SE SIM, DESCREVA _____

COINFEÇÃO _____
 SE SIM, DESCREVA _____

TABAGISTA _____
 SE SIM, DESCREVA _____

ETILISTA _____
 SE SIM, DESCREVA _____

USO DE DROGAS ILÍCITAS _____
 SE SIM, DESCREVA _____

PALPAÇÃO LINFONODOS _____
 SE ALTERADO, DESCREVA _____

ABDOMEN _____
 SE ALTERADO, DESCREVA _____

GDS _____
 SUSPEITA DE SINTOMA DEPRESSIVO _____

AVD _____
 SITUAÇÃO AVD _____

EXAME NEUROLÓGICO

FALA _____
DESCREVA

NERVOS CRANIANOS _____
DESCREVA

SENSIBILIDADE _____
DESCREVA

REF CUTÂNEO PLANTAR _____
DESCREVA

REF CUTÂNEO ABDOMINAL _____
DESCREVA

REF TENDÍNEOS BICIPITAL _____
DESCREVA

REF TENDÍNEOS TRICIPITAL _____
DESCREVA

REF TENDÍNEO RADIAL _____
DESCREVA

REF TENDÍNEO PATELAR _____
DESCREVA

REF TENDÍNEOS AQUILEU _____
DESCREVA

FORÇA MUSCULAR MS PROXIMAL _____
DESCREVA

FORÇA MUSCULAR MS DISTAL _____
DESCREVA

FORÇA MUSCULAR MI PROXIMAL _____
DESCREVA

FORÇA MUSCULAR MI DISTAL _____
DESCREVA

ATROFIA _____
DESCREVA

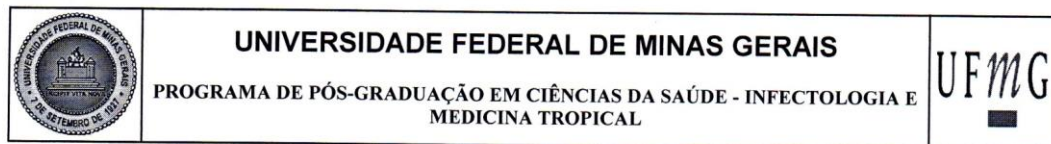
MARCHA _____
DESCREVA

COORDENAÇÃO _____
DESCREVA

ROMBERG _____
DESCREVA

MOVIMENTOS ANORMAIS _____
DESCREVA

ANEXO 8



FOLHA DE APROVAÇÃO

“Potencial Evocado Miogênico Vestibular (VEMP) Galvânico para avaliar a Evolução da Mielopatia Associada ao HTLV-1 (HAM)”

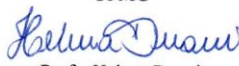
JÚLIA FONSECA DE MORAIS CAPORALI

Tese submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado, como requisito para obtenção do grau de Doutor em Medicina pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS DA SAÚDE - INFECTOLOGIA E MEDICINA TROPICAL.

Aprovada em 21 de junho de 2018, pela banca constituída pelos membros:


Prof. Denise Utsch Gonçalves | Orientadora
UFMG


Prof. Marise Oliveira Fonseca
UFMG


Prof. Helena Duani
UFMG

(VIDEOCONFERÊNCIA)
Prof. Augusto César Penalva de Oliveira
UNICAMP

(VIDEOCONFERÊNCIA)
Prof. Mauricio Campelo Tavares
Contronic

Belo Horizonte, 21 de junho de 2018.